E.D. R 1955

Setembro / Dezembro, 1954

Tomo 52

Fascículo 3/4

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
19 JUL 1956
SERIAL C.S.A.T
SEPARATE

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

DEPARTAMENTO DE IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL — 1955

ÍNDICE

Tomo 52 **Setembro/Dezembro, 1954** **Fascículo 3/4**

BARTH, R. — Sôbre os élitros de uma espécie nova de *Oontelus* do Brasil. (*Coleoptera, Malacodermata*) 487

Ueber die Elytre einer neuen Art von *Oontelus* aus Brasilien (*Coleoptera*, Malacodermata) (Uebersetzung) 490

BARTH, R. e JUNQUEIRA, J. L. — Estudos histológicos nas células glandulares dos insetos peçonhentos — III Parte: Sôbre as áreas glandulares da lagarta de *Sibine nesea* (Stoll-Cramer, 1781) (*Lepidoptera, Eucleidae*) 497

Histologische Studien an den Druesenzellen giftfuehrender Insakten — III. Teil: Ueber die Druesenfelder der Raupe von *Sibine nesea* (Stoll-Cramer, 1781) (*Lepidoptera, Eucleidae*) (Uebersetzung) 504

BARTH, R. — Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília *Triatominae* (*Heteroptera, Reduviidae*) — IV Parte: O complexo das glândulas salivares de *Triatoma infestans* 517

Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie *Triatominae* (*Heteroptera, Reduviidae*) — IV. Teil: Der Speicheldruesenkomplex von *Triatoma infestans* (Uebersetzung) 541

SOUZA LOPES, H. de — Contribuição ao conhecimento do gênero *Sarcophagula* Wulp, 1887 (*Diptera-Sarcophagidae*) 587

OLIVEIRA, L. P. H. de — Nova espécie de crustáceo *Amphipoda* da baía de Guanabara: *Ampelisca soleata* 603

A new species of *Amphipoda* from Guanabara bay: *Ampelisca soleata* (Translation) 609

SOUZA-ARAUJO, H. C. de — Lepra experimental em macacos 619

Experimental leprosy in monkeys (Translation) 653

As MEMÓRIAS, órgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas, exclusivamente, à publicações de trabalhos nêle realizados, e aparecerão em fascículos em Março, Junho, Setembro e Dezembro, ou em tomos completos, conforme as conveniências editoriais.

Tôda a correspondência deverá ser à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 – ENDERÊÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS" RIO
RIO DE JANEIRO – BRASIL

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 52 Setembro/Dezembro, 1954 Fascículos 3/4

R 1957

Sôbre os Élitros de uma Espécie Nova de Oontelus do Brasil.

(Coleoptera, Malacodermata)

Por

RUDOLF BARTH

(Com 5 figuras)

Os élitros dos *Malacordermata* mostram, muitas vêzes, estruturas e relêvos característicos, apresentando, em muitos casos — além de formações especiais do bordo externo e do contôrno inteiro — uma subdivisão de tôda a área em forma de escadas por meio de estrias longitudinais e listras transversais. Êste aspecto típico é formado por estrias longitudinais fortes com distância entre si mais ou menos regular e por conectivos transversais menores e mais baixos. Assim se formam figuras quadradas ou retangulares constituídas por uma cutícula fina, às vêzes membranosa. Esta membrana, de um modo geral, não se diferencia do material nas estruturas; ela possui a mesma pigmentação e, nas formas peludas, ainda é revestida por pêlos e cerdas. Em certos casos, entretanto, processa-se a diminuição da cutícula da membrana juntamente com uma despigmentação formando-se assim, janelas transparentes que, muitas vêzes, se tornam redondas. Desta maneira o élitro dá a impressão de uma filigrana graciosa e regular.

Com o auxílio de aparelhos óticos comuns, a estrutura das janelas transparentes pode ser verificada, espalhando-se um pó muito fino sôbre a superfície do élitro. As partículas, na luz por transparência, ficam bem visíveis no espaço claro das janelas indicando, assim, a presença de uma membrana fina. É possível fazer-se uma observação direta da membrana pelo emprêgo do microscópio de contraste de fase. Restam, entretanto, as duas questões histológicas: qual das lamelas das duas camadas cuticulares do élitro forma a membrana da janela e quais as partes da cutícula que entram na formação da mesma membrana? Essas duas perguntas só poderão ser esclarecidas por meio de cortes do élitro.

O problema chamou a atenção em virtude de um *Malacodermata* que apresentava aquelas janelas particularmente transparentes. O professor A. DA COSTA LIMA, consultado para a classificação da espécie, julgou o inseto

I O C
PUBLICADO EM
1956

bastante interessante sendo uma nova espécie do gênero *Oontelus*, existindo um só exemplar (macho) capturado perto de Petrópolis (Estado do Rio). Trata-se de um exemplar da mesma espécie da que se encontra representada no trabalho de COSTA LIMA — *Insetos do Brasil* — volume 8, página 183. Meus agradecimentos aos DRS. C. A. SEABRA e I. COSTA LEITE pela determinação do material de comparação.

É interessante observar que tais formações ou outras semelhantes existem em outras famílias de Coleópteros. São bem conhecidas as de pequenos Crisomelídeos do gênero *Chalepus*. A comparação do élitro de *Oontelus* foi feita com o de *Chalepus sanguinicollis ab. axilaris Tacq.* empregando-se a mesma técnica na preparação do material.

Os élitros foram fixados no líquido de CARNOY que tem a vantagem de extrair certas substâncias gordurosas em virtude do clorofórmio que contém, prosseguindo-se, depois, a desincrustação com diafanol (com ácido nítrico) e inclusão em parafina-borracha. Os cortes foram corados pelo vermelho congo depois de um tratamento com ácido fosfortúngstico em álcool absoluto à 5%. Para fins de comparação foram executadas colorações com azul de anilina e orange (acidificada).

OBSERVAÇÕES MORFOLÓGICAS

Os élitros de *Oontelus*, caracterizados por dois espinhos pequenos na parte apical do bordo externo, possuem um comprimento total de 2,78 mm e uma largura média de 0,68 mm.

Em comparação com o de *Chalepus* verifica-se que a sua formação é bem diferente pois faltam completamente as estrias longitudinais. Tôda a área do élitro é tomada pelas janelas transparentes, arrumadas em 8 fileiras longitudinais; cada fileira com quase 40 à 50 perfurações de 40 à 45 micra de diâmetro. As janelas de cada fileira têm uma distância entre si de 30 à 35 micra. O espaço entre duas fileiras vizinhas é de 25 à 30 micra (figs. 1 e 2). O élitro de *Chalepus sanguinicollis* (fig. 3) possui as seguintes dimensões médias: Comprimento total: 4,62 mm; largura basal: 1,18 mm, largura mediana: 0,92 mm; largura no apical: 1,09 mm. A área possui três estrias longitudinais completas e altas que nascem na elevação da articulação, percorrendo o élitro até a extremidade e reunindo-se, pouco antes da ponta apical, ao arco formado pela estria mais externa. O bordo externo apresenta dentes, sendo êstes na parte apical grande e fortes e na parte basal pequenos. As quatro áreas circunscritas pelos bordos do élitro e pelas três estrias estão repletas de janelas transparentes e redondas. Estas se dispõem em fileiras longitudinais, cada uma com 40 à 50 janelas, de 60 à 70 micra de diâmetro. Cada área tem duas de tais fileiras além daquela zona que é formada pelas estrias mediana e externa, e, que possui 4 fileiras de janelas. A última parece composta de duas áreas, sendo visível na elevação da articulação um resto de uma estria longitudinal que, entretanto, desaparece no plano do élitro havendo ainda pequenos vestígios na parte mais apical. A distância entre duas fileiras de janelas oscila entre 10 e 20 micra; o espaço entre duas janelas da mesma fileira é de aproximadamente 55 micra.

OBSERVAÇÕES HISTOLÓGICAS

OONTELUS

O élitro possui, na parte entre as janelas, uma espessura de 20 à 25 micra e a membrana das janelas apenas 0,34 à 0,36 micra. Para a determinação da origem das membranas transparentes torna-se necessária uma separação das várias camadas da cutícula. As duas lamelas dos élitros estão separadas por uma grande cavidade atravessada por columelas fortes com uma espessura de quase 20 micra (fig. 4). Assim, o élitro apresenta resistência notável a qual pode ser comparada com o princípio empregado pelo homem nas estruturas de alumínio na aerotécnica. Cada lamela do élitro, sendo a superior sempre um pouco mais espessa que a inferior, tem na parte basal uma endocutícula, com muitas camadas finas, que forma a parede da citada cavidade e que fornece o material constitutivo das columelas. As camadas estão bem diferenciadas e podem ser coradas fortemente pelo vermelho congo e pelo azul de anilina. A exocutícula que se segue é composta de dois estratos: o de baixo com numerosas camadas finas sem afinidade para vermelho congo e o azul de anilina corando-se pelo orange. A parte mais apical, com apenas 4 à 6 camadas, não se cora nem pelo vermelho congo, nem pelo azul de anilina e nem pelo orange. Sem o tratamento pelo diafanol ela apresenta uma coloração forte de preto-parda; depois do tratamento permanece uma tonalidade amarela. Tanto a composição e a afinidade para os corantes, como também a pigmentação e esclerotisação, indicam que a sua resistência deve ser muito grande.

As duas superfícies do élitro são revestidas por uma epicutícula muito fina, de pouco mais que 0,2 micron de espessura, deixando ver ligeiramente, com um aumento de 1.000 vêzes, um duplo contôrno. As camadas constituintes dos três estrados da cutícula continuam, sem interrupção, no bordo das janelas (fig. 5) da lamela superior para a inferior. Nêste ponto, as camadas da endocutícula e da parte basal da exocutícula não sofrem nenhuma modificação, enquanto que, as camadas da parte apical da exocutícula (EC1) se espessam. Elas, se dilatando, formam aqui um espaço livre com 1,2 micron de largura. Êsse espaço é cheio de uma massa colaginosa que pode ser corada com azul de anilina. A mesma massa encontra-se entre as exocutículas, externa e interna. A epicutícula mantém a mesma forma, afasta-se, entretanto, da exocutícula e — não passando com a última para o outro lado — junta-se com a epicutícula do lado oposto formando a membrana que vai constituir a janela. Esta é completamente hialina e deixa entrever em certos pontos favoráveis a sua dupla-formação. O espaço livre, no ponto de separação das epicutícula e exocutícula, mostra uma figura triangular, que é cheia com a citada massa colaginosa (MC). A distenção máxima das camadas externas da exocutícula aumenta, sem dúvida, a elasticidade do bordo da janela, mantendo a tensão da membrana transparente.

Chalepus sanguinicollis ab axilaris

O élitro de Chalepus, observado como material de comparação, apresenta, empregando-se a mesma técnica o seguinte aspecto: A lamela superior do élitro tem uma espessura quase dupla da da lamela inferior (respectivamente 25 a 40 micra e 15 a 20 micra). A exocutícula compõe-se de 6 à 7 camadas sem deixar ver uma subdivisão em duas partes como em *Oontelus*. Cada camada (com uma espessura de 6 micra) é formada por fios quitinosos finos e paralelos que estão colados entre si por uma massa colaginosa e que não foram observados em *Oontelus*. Os fios de duas camadas subsequentes formam em sua direção um ângulo de aproximadamente 60° de modo que os fios de três em três camadas têm a mesma direção. A endocutícula é fina e possui poucas camadas com uma espessura de 2,5 à 3 micra cada uma. No entanto, a epicutícula atinge a espessura notável de 1,8 à 2,1 micra. Tanto a membrana transparente como a sua inserção na cutícula apresentam a mesma estrutura como em *Oontelus*. Porém a espessura da membrana — em conseqüência da epicutícula desenvolvida espessa — está muito aumentada e atinge 4 à 4,3 micra. A separação em duas partes é bem visível sendo observável entre elas, em cortes favoráveis, uma camada fina de massa colaginosa. A inserção no bordo da janela mostra com nitidez, a transformação da epicutícula das duas superfícies do élitro em membrana transparente sendo esta formada, aqui como em *Oontelus*, do mesmo material da epicutícula. As camadas da exocutícula, no ponto da inserção, são mais fortes que em outras partes; a diferença para mais é de quase 2 à 3 micra. As camadas estão distendidas ao máximo e os espaços entre elas paracem cheios do mesmo material colaginoso, que se cora fortemente pelos azul de anilina e vermelho congo.

RESUMO

Foram analisados os élitros de uma nova espécie de *Oontelus* e, para comparação, os de *Chalepus sanguinicollis ab. axilaris*, com o fim de esclarecer a origem das membranas transparentes em forma de janela. As membranas formam-se das epicutículas das duas superfícies do élitro, coladas uma a outra por meio de uma massa colaginosa. A espessura em *Oontelus* é de 0,34 à 0,36 micron, em *Chalepus* de 4 à 4,3 micra. Os dois casos referidos confirmam um exemplo típico da lei da continuidade da cutícula nos tecidos de origem ectodermal, dos insetos, cuja formção — segundo o plano básico da estrutura do corpo — não permite nenhuma interrupção da cutícula.

UEBERSETZUNG

Ueber die Elytre einer neuen Art von Oontelus aus Brasilien.

Die Fluegeldecken der Malacodermaten zeigen haeufig charakteristische Strukturen, die — abgesehen von besonderen Randbildungen und von ungewoehnlichen Umrissformen — in vielen Faellen sich in einem leiterfoermigen

Aufbau der gesamten Flaeche aeussert. Diese typische Struktur besteht aus kraeftigen Laengsrippen, die in mehr oder weniger regelmaessigem Abstand von schwaecheren Querbalken verbunden werden. Auf diese Weise werden quadratische oder rechteckige Felder abgegrenzt, die im allgemeinen von einer duenneren Cuticula gebildet werden. Letztere unterscheidet sich in vielen Faellen nicht prinzipiell vom Material des stuetzenden Geruestes, sie besitzt die gleiche Pigmentierung und ist bei behaarten Formen ebenfalls von Haaren oder Borsten besetzt. In manchen Faellen jedoch schreitet die Verduennung der Membram weiter fort, verbunden mit einer Entpigmentierung, so dass transparente Fenster entstehen. Auf diese Weise erscheint die Fluegeldecke als ein zierliches, regelmaessig gebautes Filigran.

Mit normalem optischen Geraet laesst sich die Struktur bereits ausreichend morphologisch analysieren; die durchsichtige Fenstermembran ist mit Sicherheit durch das Kontrastphasen-Mikroskop erkennbar. Das Vorhandensein der Membran kann ebenfalls durch Einstaeuben der Elytre nachgewiesen werden, wonach sich die Staubpartikel im durchfallenden Licht auf der durchsichtigen Membran zeigen. Histologisch bleiben allerdings die beiden Fragen offen, von welcher der beiden Lamellen der Elytre die Membran gebildet wird und welche Cuticularteile an der Bildung der Membran beteiligt sind. Diese beiden Probleme lassen sich nur vermittels Schnitte durch die Elytre klaeren.

Das Problem wurde akut durch eine Malcodermate, die diese Fensterstruktur in besonders klarer Weise zeigte. Herr Prof. A. da Costa Lima interessierte sich fuer das einzige bei Petropolis (Estado do Rio) gefangene Exemplar, da es sich um eine neue Art der Gattung *Oontelus* handelt. Ein Exemplar derselben Art findet sich wiedergegeben in der Arbeit von Costa Lima *Insetos do Brasil,* Band 8, Seite 183. Den Herren Dr. C. A. Seabra und Dr. *J.* Costa Leite danke ich fuer die Bestimmung des Vergleichsmaterials.

Interessant ist, dass auch in anderen Kaeferfamilien solche bezw. aehnliche Bildungen gefunden werden. Bekannt sind sie von den kleinen Chrysomelinden der Gattung Chalepus. Im Vergleich zu der *Oontelus* — Art wurde mit derselben Technik die Elytre von *Chalepus sanguinicollis, ab. axilaris* Tacq. im Schnitt untersucht.

Die Fluegeldecken wurden mit Carnoy'scher Fluessigkeit fixiert, um den Vorteil einer Extraktion von Fetteinlagerungen durch Chloroform auszunutzen. Darauf folgte Desinkrustierung in Diaphanol (mit Salpetersaeure) und Einbettung in Paraffin (gemischt mit gesaettigter Loesung von Latex im gleichen Paraffin vom Schmelzpunkt 56°-58° im Verhaeltnis 1 : 4). Die 5 und 10 micra dicken Schnitte wurden mit Congorot nach 2-stuendiger Vorbehandlung mit Phosphorwolframsaeure (5% in absolutem Alkohol) gefaerbt. Zur Ergaenzung wurden andere Schnitte mit Anilinblau-Orange (angesaeuert) angefertigt. Im folgenden werden die erhaltenen Ergebnisse geschildert:

MORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

Die Fluegeldecken von *Oontelus* besitzen eine Gesamtlaenge von 2,78 mm und eine durchschnittliche Breite von 0,68 mm. Sie sind wesentlich einfacher als die der Vergleichsart gebaut, da ihnen jedwede Reste von Laengsrippen

fehlen. Die gesamte Flaeche ist besetzt von den transparenten Fenstern, die sich in 8 Laengsreihen anordnen, jede Reihe mit etwa 40-50 Loechern von je 40-45 micra Durchmesser. Die Loecher jeder Reihe haben etwa 30-35 micra Abstand voneinander. Der Zwischenraum zwischen den Reihen betraegt etwa 25-30 micra (Fig. 1 und 2).

Die Fluegeldecke von *Chalepus sanguinicollis* (Fig. 3) besitzt folgende Durchschnittsmasse: Laenge 4,62 mm, Breite basal, 1,18 mm, Breite medial, 0,92 mm, Breite apikal 1.09 mm. Die Flaeche besitzt drei hohe Laengsrippen, die von der deutlich hervorgehobenen Schulterbeule ausgehen und sich kurz vor der Spitze in einem, von der aeusseren der drei Rippen gebildeten Bogen vereinigen. Der Aussenrand ist mit Zaehnen besetzt, die an der Spitze gross und stark sind, zur Basis hin jedoch kleiner werden. Die von den Rippen abgegrenzten Flaechen sind dicht mit kreisrunden Fenstern mit einem Durchmesser von 60-70 micra besetzt. Die Fenster sind in Laengsreihen angeordnet, auf jede Flaeche entfallen 2 solcher Reihen bis auf die von der mittleren und aeusseren Rippe eingeschlossene Flaeche, die 4 solcher Rippen besitzt. Letztere scheint aus 2 Flaechen zusammengesetzt zu sein, da an der Schulterbeule der Rest einer Laengsrippe sichtbar ist, die sich jedoch auf der Elytre schon bald bis auf einige geringe Spuren verliert. Der Abstand zweier Fensterreihen betraegt etwa 29 micra, der Zwischenraum zwischen zwei Fenstern der selben Reihe belaeuft sich auf etwa 55 micra.

HISTOLOGISCHE BEOBACHTUNGEN

OONTELUS

Die Fluegeldecke besitzt zwischen den Fenstern eine Dicke von 20-25 micra, die Membran der Fenster dagegen eine solche von nur 0,34-0,36 micra. Um die Herkunft der Fenstermembran festlegen zu koennen, ist eine klare Aufteilung der Cuticula in ihre Schichten notwendig. Die beiden Lamellen der Elytre werden durch einen grossen Hohlraum voneinander getrennt, der durch kraeftige Kolumellen (etwa 20 micra stark) unterbrochen wird. Hierdurch erhaelt die Fluegelflaeche eine grosse statische Festigkeit, ein Bauprinzip, das wir heute beim Flugzeugbau in der menschlichen Technik wiederfinden. Jede Lamelle der Elytre (die obere ist immer etwas dicker als die untere) besteht zu innerst aus einer vielschichtigen Endocuticula, die den gesamten Hohlraum auskleidet und das Material fuer die Lamellen liefert. Ihre Schichten sind deutlich erkennbar und faerben sich mit Congorot stark rot, mit Anilinblau deutlich blau. Die nach aussen folgende Exocuticula setzt sich aus zwei Schichten zusammen, von denen die innerste aus zahlreichen, sehr duennen Schichten besteht und nach Congorotfaerbung ein graues Aussehen zeigt, waehrend sie Anilinblau nicht annimmt, aber dafuer eine starke Affinitaet zu Orange zeigt. Die aeussere Schicht, die nur wenige Lamellen umfasst, laesst sich weder mit Congorot noch mit Anilinblau-Orange faerben. Im unbehandelten Zustand ist sie schwarzbraun, nach Behandlung mit Diaphanol bleibt sie bei allen Faerbungen gelb. Die Zusammensetzung

und die Farbaffinitaeten wie auch die starke Pigmentierung und Anreicherung von skelerotisierendem Material deuten daraufhin, dass der Widerstand gegen Druck und Verbiegungen bedeutend sein muss.

Auf ihrer Oberseite werden beide Lamellen der Elytre von einer sehr duennen Epicuticula ueberzogen, die nicht viel diker als 0,2 micron sein kann, da bei 1000 facher Vergroesserung eine Doppelkontur grade noch zu erkennen ist. Am Rand der Fenster gehen die Lamellen der drei Hauptcuticulalagen der Oberseite ohne irgendwelche Unterbrechungen in die der Unterseite ueber. Dabei erfahren die Endocuticula und die innere Schicht der Exocuticula keine Veraenderung, wohl dagegen die aeussere Schicht der Exocuticula (EC_1). Sie verstaerkt ihre Lamellen, die in der Kurve selbst bis zu 1,2 micron auseinandertreten und mit einer grauen, sich mit Anilinblau kraeftig faerbenden Kittsubstanz ausgefuellt werden. Auch zwischen aeusserer und innerer Exocuticula findet sich dieselbe Masse. Die Epicuticula bleibt an dieser Stelle in derselben Form erhalten, loest sich aber von der Exocuticula und legt sich mit der Epicuticula der Gegenseite, die auch ihre Unterlage verlaesst, zu einer Membran zusammen, die sich zum gegenseitigen Rand des Fensters erstreckt. Sie ist voellig hyalin, laesst aber an guenstig gelegenen Stellen des Schnittes ihre Zusammensetzung aus zwei Lamellen erkennen. Der freie Raum an der Abloesungsstelle der Epicuticula von der Exocuticula, der eine dreieckige Form hat, ist ebenfalls mit der oben erwaehnten Kittmasse angefuellt.

Die Dillatation der aeusseren Cuticularschichten traegt zweifellos zur Erhoehung der Elastizitaet des Fensterrandes bei, welch letzterer die Spannung der Fenstermembran aufrecht zu erhalten hat.

Chalepus sanguincollis ab. axilaris

Die zum Vergleich herangezogene Elytre dieser Art zeigt unter Anwendung derselben Behandlungstechnick folgendes, wesentlich unterschiedliches Bild: Die Oberlamelle der Elytre ist fast doppelt so dick (35-40 micra) wie die Unterlamelle (15-20 micra). Die Exocuticula besteht aus 6-7 Schichten, ohne eine Unterteilung wie bei *Oontelus* erkennen zu lassen. Jede Schicht von etwa 6 micra Dicke besteht aus parallel laufenden Cuticularbalken oder-leisten, die durch eine Kittmasse verklebt sind und bei *Oontelus* nicht gefunden wurden. Die Balken zweier aufeinander folgender Schichten unterscheiden sich in ihrer Richtung um etwa 60°, so dass die Balken jeder dritten Schicht dieselbe Richtung haben. Die Endocuticula ist duenn und besteht aus nur wenigen, 2,5-3 micra dicken Schichten. Dagegen erreicht die Epicuticula eine bedeutende Dicke von 1,8-2.1 micra. Die Fenstermembran und ihr Ansatz an der Cuticula zeigten denselben Bau wie bei *Oontelus,* nur dass sie wesentlich staerker sind. Ihre Dicke betraegt 4-4,3 micra. Die Trennung in zwei Schichten ist sehr deutlich, da auf guenstigen Schnitten zwischen beiden eine duenne Lamelle von Kittmasse sichtbar ist. Ihr Ansatz am Fensterrand zeigt deutlich den Uebergang der Epicuticula in die beiden Schichten der Membran, so dass auch hier wie bei *Oontelus* die Fenster-

membran aus dem Material der Epicuticula gebildet ist. Die Schichten der Exocuticula an der Ansatzstelle sind staerker als auf der Flaeche der Elytre; der Unterschied betraegt etwa 2-3 micra. Die Schichten dillatieren und ihre Zwischenraeume sind ebenfalls mit der Kittmasse ausgefuellt, die sich mit Anilinblau und mit Congorot stark faerbt.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Fluegeldecken einer neuen Art der Gattung *Oontelus* und der Vergleichsart *Chalepus sanguinicollis ab. axilaris* analysiert, um den Ursprung der hyalinen Fenstermembranen in den Durchbruechen der Elytren zu erklaeren. Die Membran wird von den beiden Epicuticulas der Ober- und Unterseite der Elytre gebildet, baide Membranen sind durch eine Kittmasse mit einander verklebt. Bei *Oontelus* betraegt die Membrandicke 0,34-0,36 micron, bei *Chalepus* 4-4,3 micra. Die beiden beschriebenen Faelle bieten ein typisches Beispiel fuer das Gesetz von der Kontinuitaet der Cuticula auf den ektodermalen Teilen der Insekten, deren Bildung — entsprechend dem Grundplan des Koerperbaues — keine Unterbrechung der Cuticula erlaubt.

SUMMARY

In this paper are analysed the elytrae of a new species of the genus *Oontelus* and, for comparation, of *Chalepus sanguinicollis ab. axilaris* with a view to explain the origin of the transparent membrane of the perforations of the elytrae. The membrane is formed by the two epicuticulae of the uper- and underside of the elytra, the two membranes adhere together closely by means of a adhesive mass. The thickness of the membrane of *Oontelus* mounts to 0,34-0,36 micron, that of *Chalepus* to 4-4,3 micra. This two described cases represent a typical for the law of the continuation of the cuticula on the ectodermal parts os insects whose formation, corresponding to the basical plan of construction of the body, does not allow any interruption.

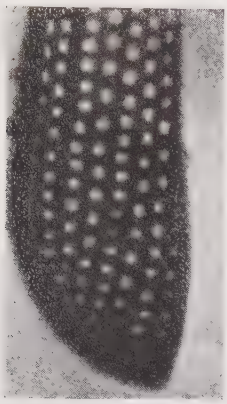


Fig. 1

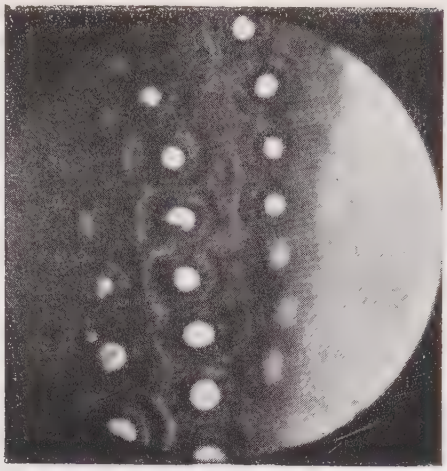


Fig. 2

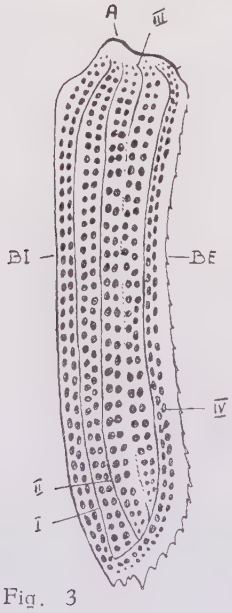
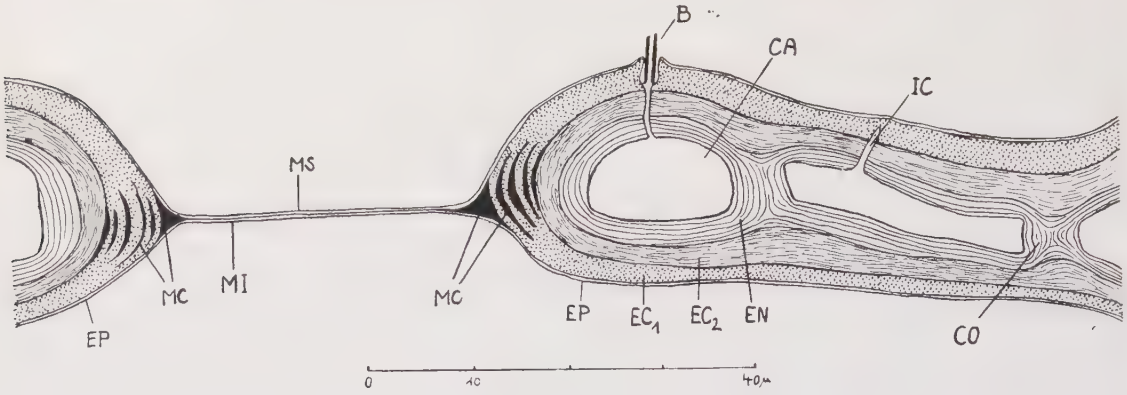


Fig. 3

Fig. 1 — Foto do élitro (parte apical) de *Oontelus*.
Fig. 2 — Detalhe da fig. 1 aumentada.
Fig. 3 — Élitro de *Chalepus sanguinicollis*, visto de cima. Comprimento total: 4,62 mm. A — articulação, BE — bordo externo, BI — bordo interno, I-IV — estrias longitudinais dos élitros

Fig. 1 — Aufnahme des Apikalteils der Elytre von *Oontelus*.
Fig. 2 — Vergroesserter Ausschnitt aus Fig. 1.
Fig. 3 — Fluegeldecke von *Chalepus sanguinicollis* von oben gesehen. Gesamtlaenge 4,62 mm. A Gelenk, BE Aussenrand, BI Innenrand, I-IV Laengsrippen der Elytren.



Fgi. 4

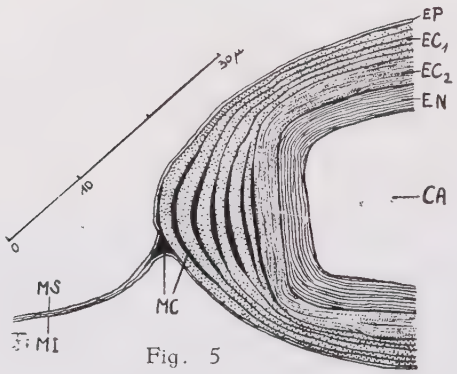


Fig. 5

Fig. 4 — Corte transversal da inserção da membrana da janela do élitro de *Oontelus*. B — cerda, CA — cavidade, CO — columela, EC_1 — exocutícula externa, EC_2 — exocutícula interna, EN — endocutícula, EE — epicutícula — IC canal de inserção de uma cerda, MC — massa colaginosa, MI — lamela inferior da membrana transparente, MS — lamela superior da membrana transparente.

Fig. 5 — Semi-esquema de corte transversal da janela com uma parte da área do élitro de *Oontelus*. CA — cavidade, EC_1 — exocutícula externa, — EC_2 — exocutícula interna, EN — endocutícula, EP — epicutícula, MI — lamela inferior da membrana transparente, MS — lamela superior da membrana transparente.

Fig. 4 — Querschnitt durch die Insertion der hyalinen Membran der Fenster in der Elytre von *Oontelus*. B Borste, CA Hoehlung, CO Columellen, EC_1 aeussere Exocuticula, EC_2 innere Exocuticula, EN Endocuticula, EP Epicuticula, IC Insertionskanal einer Borste, MC Kittmasse, MI Untere Lamelle der hyalinen Membran, MS Obere Lamelle der hyalinen Membran.

Fig. 5 — Halbschematischer Querschnit durch ein Fenster mit einem Teil der Flaeche der Elytre von *Oontelus*. CA Hoehlung, EC_1 aeussere Exocuticula, EC_2 innere Exocuticula, EN Endocuticula, EP Epicuticula, MI untere Lamelle der hyalinen Membran, MS obere Lamelle der hyalinen Membran.

Estudos Histológicos nas Células Glandulares dos Insetos Peçonhentos

III. Parte: Sôbre as áreas glandulares da lagarta de Sibine nesea (Stoll-Cramer, 1781) (Lepidoptera, Eucleidae)

por

Rudolf Barth

e

José Lôbo Junqueira

(Com 10 figuras)

ÍNDICE

1. Introdução.
2. O aparelho inoculador.
3. A glândula.
4. Resumo.
5. Literatura.
6. Explicação das abreviações nas figuras.

I. INTRODUÇÃO

Nessa terceira parte dos «*Estudos histológicos nas células glandulares dos insetos peçonhentos*» apresentada em seguida, é tratado dos dois pares de áreas glandulares encontrados nas lagartas de *Sibine nesea*. Esta lagarta vive geralmente sôbre folhas de palmeiras e laranjeiras sem prejudicar muito estas plantas. Como as pernas falsas não podem ter função sôbre superfícies lisas, desapareceram completamente de modo que a parte ventral do corpo é constituída por uma superfície um tanto rugosa que se adapta bem às irregularidades do substrato. Entretanto, como os músculos primitivos das pernas ainda permanecem, as partes medianas dos segmentos abdominais podem ser levantadas de modo que vão funcionar como ventosas. Assim, ao se tentar retirar uma destas lagartas de sôbre uma folha, ela oferece resistência mesmo após havermos levantado a parte anterior do corpo correspondente as três pernas verdadeiras, o que vem provar esta função. O corpo, volumoso

e largo, apresenta em cada segmento expansões (fig. 1, exp.) onde se inserem cerdas e espinhos. À cada segmento corresponde um par de expansões, à exceção do 1º e 2º toráxico e 7º abdominal que apresentam dois pares. Em cada segmento, além do 1º e 3º do tórax, estas expansões se dispõem abaixo da linha lateral, enquanto que na parte anterior e na posterior (1º a 3º segmento do tórax e 7º abdominal) o segundo par de expansões tem uma situação dorsal, o que leva, num rápido exame, a confundir estas duas regiões. As áreas glandulares, mais ou menos ovais, são bem delimitadas e se dispõem: o primeiro par, na parte látero-inferior do 7º segmento abdominal, acima e em contato com a expansão inferior do mesmo e apresenta as seguintes medidas máximas — diâmetro maior 2,7 mm e menor 1,5 mm; o segundo par se localisa na parte dorsal do 9º segmento abdominal, na frente e em contato com a única expansão por êle apresentada, é menor que o primeiro e as áreas são mais ou menos redondas, apresentando as medidas: 2 mm e 1,5 mm. Os dois pares de áreas apresentam uma coloração vermelha escura que se distingue nìtidamente da coloração verde clara do corpo.

O contato com estas áreas provoca na epiderme do homem irritações e coceiras e onde a epiderme é mais fina queimaduras, até a formação de flictenas. Efeitos sôbre o sistema nervoso, não foram constatados. Isto é um fato tão comprovado que no interior o povo precisa muito bem ao chamar estas lagartas de «lagartas de fogo», «tataranas» (taturanas, tatoranas), nome de origem tupi-guaraní e que corresponde a «tata» — fogo e «rana» — semelhante à, parecido com.

2. O APARELHO INOCULADOR

Tôda a área glandular é ocupada por espinhos que se encontram uns bem junto dos outros, aparentando cerdas mas, representam apenas duplicações da cutícula. Na ponta de cada espinho vamos encontrar a cerda (fig. 3, cd) que, à primeira vista, parece um ponto predestinado do espinho para se quebrar pela pressão durante a picada. Ela apresenta uma inserção modificada como também foi o caso de *Megalopyge albicollis superba* já descrito na parte II dêstes trabalhos. A base da cerda se estreita em forma de funil (fig. 2b, f) e se encaixa perfeitamente na ponta do espinho. Vestígios do espaço de inserção são encontrados sob a forma de pequenos espaços cheios de ar que se podem distinguir pela sua maior refringência (fig. 2c, v). Externamente, a cerda, aparecendo como uma continuação do espinho, vai se afinando e sua extremidade é ponteaguda para facilitar a penetração na pele do inimigo e sua parede é inteiramente lisa. Na fig. 2*a*, *b* e *c* são apresentados três aspectos da cerda. Em 2b temos uma cerda solta do espinho e, tomando-se as medidas encontramos: comprimento total 36 micra, comprimento da superfície de encaixe (f) 7,5 micra, e maior diâmetro externo 10,5 micra. Internamente observamos (fig. 2ª) que a cavidade basal da cerda é mais estreita que a do espinho, depois ela se alarga e daí vai se afinando progressivamente de modo que a parede interna acompanha a externa. Um corte em três dimensões pela cerda apresenta o aspecto da fig. 2*c*. Quanto a cutícula, ela é dura, forte, muito esclerosada e não apre-

senta estruturas. O corante utilisado para a quitina foi Vermelho Congo (1% em álcool 96%, duas horas na estufa à 60°) e, em virtude do material ter sido pouco impregnado pelo corante, concluimos pela pequena quantidade de quitina na formação das paredes da cerda. Podemos, então, dizer que, devido ao tipo especial de inserção e a dureza da cutícula, só ocasionalmente poderá a cerda se quebrar durante a picada.

No espinho, apesar de ser também duro e esclerosado, vamos encontrar uma maior proporção de quitina na formação de suas paredes e, aí, a cutícula deixa à mostra lamelas paralelas visíveis em tôda a extensão das paredes. O espinho é, em geral, reto. Outras vêzes, é um pouco curvado como aparece na fig. 3, e, mais raramente com curvatura mais acentuada. Seu comprimento é, em média, de 510 micra, variando dentro de pequenos limites. Em relação ao diâmetro, observamos que na região basal êle é mais estreito, depois vai se engrossando até atingir o maior diâmetro no ¼ inferior e daí se afina progressivamente até ao ápice, ponto de inserção da cerda. A superfície do espinho, ao contrário da da cerda, apresenta expansões aciculares da cutícula, as escaminhas (fig. 3, es), que são maiores na base e diminuem seu tamanho à medida que se vai aproximando do fim do espinho. Estas escaminhas tendem à se disporem umas acima das outras formando fileiras longitudinais. As paredes internas dos espinhos são lisas e possuem depressões nos pontos correspondentes externamente às escaminhas. Num corte transversal pela base do espinho (fig. 4a) observamos que nesta região a sua cavidade é grande e tem uma forma elipsoide irregular, sendo limitada por uma cutícula relativamente fina com a exocutícula apresentando expessura mais ou menos igual a da endocutícula. Entretanto, à medida que se progride para a ponta, o canal vai diminuindo seu diâmetro, a exocutícula aumentando sua expessura, a endocutícula diminuindo e o aspecto apresentado (fig. 4b) é circular.

Na base do espinho encontramos, em geral, quatro escaminhas (es 1-4) que rodeando a parte que liga o espinho à parede do corpo, vão servir de apôio para manter o espinho sempre em posição erecta (fig. 3). Êste princípio já foi também encontrado em escamas odoríferas de Heliconiineos (Barth, 1952) e Pierídeos (Barth, 1949). Também as cerdas odoríferas de *Agylla argentea* (*Lepidoptera, Arctiidae*) (Barth, no prelo) possuem estas escaminhas basais para manter a cerda verticalmente, de maneira que o canal condutor não possa ser dobrado e, com isto, fechado. Aqui em *Sibine nesea* esta formação deve ter as duas finalidades: manter a cerda em posição erecta favoràvelmente para a picada e evitar o fechamento do canal de peçonha na base do espinho.

A parte que liga o espinho à parede do corpo é fina, mas a cutícula é bem engrossada, só deixando um pequeno lumem. Esta parte vai se continuar numa saliência da parede do corpo em forma de cúpula (fig. 5 e 6, s). Também esta região apresenta orientação das camadas de cutícula. Em redor de cada cúpula, a parede do corpo apresenta uma depressão e nesta região é que as escaminhas se apoiam (fig. 5). A parede do corpo já é formada por uma maior proporção de camadas cuticulares. Pela intensidade de colorações podemos nìtidamente distinguir a exocutícula (ex) da endocutícula (en).

Aquela se apresenta mais corada pelo Vermelho Congo que esta. Na parte superior da exocutícula que, aliás, apresenta as lamelas bem unidas, vamos encontrar espaços vasios (pe), o que é geral para a exocutícula de todo o corpo. Êstes espaços aumentam a resistência e elasticidade da exocutícula, têm um efeito como o destas estruturas metálicas e mesmo tijolos furados utilizados pela engenharia moderna. A endocutícula apresenta lamelas maiores e que, às vêzes, mudam de direção, de horizontais para verticais, em virtude dos espaços (cq) que vão conter as células glandulares. Assim, em tôda a área glandular a cutícula apresenta perfurações que, iniciando-se na hipoderme por um fina canal, vão se engrossando, atingem o diâmetro máximo na parte média da endocutícula, depois voltam a se afinar e após há nova dilatação do canal, agora já dentro da cúpula. Nem corte longitudinal (fig. 6) verificamos que os espaços da cutícula não são perfeitamente perpendiculares à ela e paralelos uns aos outros. Isto é explicado, porque, tendo que haver uma dilatação maior para o corpo da célula, umas apresentam esta dilatação já próxima da exocutícula, como é o caso geral e as outras procuram se ajeitar nestes intervalos. Porisso, poucas vêzes encontramos em cortes o início e o fim de um espaço. Na área glandular a expessura da parede do corpo varia de 96 à 262 micra, estando incluído aí a expessura da exocutícula, que varia de 13 à 21 micra. O canal (cq) como já dissemos tem um diâmetro variável.

3. A GLÂNDULA

O método utilizado para a histologia foi o seguinte: fixação segundo Bouin modificada por Dubosc-Brasil adicionando-se 5% de ácido nítrico, três horas com vácuo até 300 mm de mercúrio. Desidratação por álcool-benzol e inclusão em parafina-borracha. Depois de 30 minutos de fixação de todo o objeto a região posterior do corpo foi cortada a fim de facilitar a penetração do fixador.

Em cada espaço da cutícula (cq) vamos encontrar uma única célula glandular. Vejamos como se forma esta glândula unicelular: a hipoderme entra na cutícula pelo espaço que é fino na base, com uma pequena espessura e recobre internamente suas paredes. Apresenta poucos núcleos e êstes têm uma forma de disco, aumentando de tamanho à medida que se vai progredindo internamente. Na parte interna da cúpula é a hipoderme mais fina e daí passa para o espinho ainda diminuindo a espessura. Reveste a cavidade basal do espinho só deixando um espaço central irregular para logo acima diminuir novamente sua expessura e ir progredindo assim até a base da cerda (fig. 10). Os núcleos no espinho são maiores na base e têm a forma oval ou circular, parecendo discos, que vão diminuindo de tamanho à medida que se aproximam da ponta, quando, então, é difícil distinguí-los devido à sua pequena espessura. Ao atingir a base da cerda a hipoderme retorna encostando-se intimamente na camada que sobe. Sua espessura é ínfima, dificilmente observada nos cortes. Vem até a base do espinho onde, então,

se afasta um pouco da hipoderme do espinho, volta a se encostar na mesma, atravessa o canal que comunica êste com a cúpula e, agora em forma de um tubo, toma uma situação central na cavidade da mesma e desce até entrar na grande cavidade cuticular (cq). Logo depois de entrar nesta cavidade as células aumentam. Resumindo, podemos constatar que o percurso da hipoderme é o seguinte: a cavidade cuticular é revestida por um sincício hipodermal unicelular, enquanto que a cúpula e todo o espinho, até a inserção da cerda, possui um sincício de duas camadas que se encostam intimamente pelas respectivas membranas basais. O polo apical da camada de hipoderme, que forma quitina, desce da inserção da cerda virado para dentro da cavidade do espinho. E, como o lado interno do canal da cúpula e do espinho é nitidamente limitado, pode-se supor que esta parede é feita de uma substância cuticular. Entretanto, a parede é tão fina que mesmo microscòpicamente foi impossível determinar sua composição. Na parte superior da cavidade cuticular (cq) termina o canal mencionado, que é fechado (fig. 7, vt). A célula que forma o fim do canal é a célula glandular, enquanto que tôdas as outras células hipodermais até a inserção da cerda na extremidade do espinho, nós temos que chamar de células do canal.

Os corantes utilizados, hematoxilina de DELAFIELD e hematoxilina de WEIGERT, impregnaram bem o citoplasma e o núcleo e facilitaram a localização da célula glandular contida no espaço da cutícula. Ela ocupa todo o lumem do espaço, desde a zona de transição entre exo e endocutícula até a abertura, em baixo, do canal, mas não chega a atingir a cavidade pròpriamente dita do corpo, fica sòmente dentro da cutícula, acima do nível horizontal da hipoderme. No estudo da glândula temos que distinguir a célula glandular do canal condutor da peçonha.

A célula glandular é, em geral, alongada com a parte superior mais desenvolvida e, caminhando para a parte basal, vai diminuindo de diâmetro progressivamente. A sua forma não é constante pois, outras são relativamente curtas e ainda outras que podem se situar tanto mais próximas como mais afastadas da exocutícula têm um corpo largo e sofrem uma brusca diminuição do diâmetro. Ao observarmos um corte, quase sempre encontramos todos êsses tipos. O protoplasma da célula glandular é denso, compacto, sem retículo visível e com pequenos vacúolos. Êstes ou são resultantes da fixação e desidratação ou, então, resultam da dissolução de substâncias sólidas (mitocondrios ?) ou líquidas e, neste caso, as células examinadas estão demonstrando um estado pre-secretor. Num corte diagonal (fig. 7) vamos observar a existência, na parte apical da célula, de uma zona radiada (zi). O protoplasma formador desta zona pouco se cora, é um protoplasma filamentoso, obedecendo os fios uma orientação no sentido do canal

intracelular. Esta formação é normal para glândulas hipodermais mais desenvolvidas de insetos e sua finalidade é conduzir secreção. A zona radiada é demonstrada em dois cortes transversais, o primeiro, (fig. 8b) feito na região apical, mostra uma pequena parte da zona radial e a orientação dos fios, enquanto o segundo (fig. 8c) foi feito mais abaixo e podemos observar que houve uma dilatação do canal e, proporcionalmente, a zona condutora não aumentou. Êste canal, como é demonstrado na fig. 7 (aí o corte não foi perfeitamente longitudinal à célula) não é muito profundo e termina em forma de saco no centro da zona radiada.

O núcleo da célula glandular é polimorfo. Apresenta, em geral, a parte basal afilada e aumenta de volume para a parte apical onde demonstra uma forma irregular com filamentos. Na fig. 9*a* e *b* são representados os contôrnos tomados transversalmente de dois núcleos e em 9*c*, *d* e *e* contôrnos tomados longitudinalmente, demonstrando êste polimorfismo. A cromatina é normal indicando que, apesar da forma caracteristicamente ativa e confirmando o que foi dito para o protoplasma, a célula ainda não entrou na fase completamente ativa.

O aparelho condutor (fig. 7 e 5, ac) já tem início dentro da célula glandular. Daí, se continua limitado pela hipoderme que em forma de canal desce da inserção da cerda para formar a célula glandular (fig. 5). Um corte transversal pela região da cúpula apresenta o aspecto da fig. 8*a*. Assim, a secreção saindo da célula glandular vai encher o espaço limitado pela hipoderme, passa para o espinho pela pequena cavidade situada em sua base, enche todo seu lumem e penetra na cerda.

Função: O inimigo pondo-se em contato com a área glandular, as cerdas ponteagudas facilitam a sua própria penetração que é seguida da do espinho. Pela sua inserção a cerda não se quebra para abrir o canal de peçonha, isto é feito numa região situada antes da inserção da cerda, num ponto mais fino e não predestinado do espinho. Após isto, o espinho se quebra pela base e devido a orientação para baixo das escaminhas, êle fica preso no tecido do inimigo, o que facilita todo o escoamento da peçonha.

4. RESUMO

a) Foram estudados os dois pares de áreas glandulares da lagarta de *Sibine nesea*. O primeiro par se localisa no 7º segmento abdominal enquanto o segundo está no 9º segmento abdominal. Estas áreas glandulares são semelhantes entre si em forma e função. São cobertas por espinhos que ficam em posição erecta e representam o aparelho inoculador.

b) A cerda, pequena, se localisa na ponta do espinho com uma inserção modificada, de modo que sua base se afunila e ela se apoia firmemente sôbre a extremidade do espinho.

c) O espinho representa uma evaginação da parede do corpo. É longo e apresenta em tôda a sua superfície escaminhas dirigidas para baixo e que aumentam de tamanho caminhando-se da extremidade para a base do espinho.

d) A hipoderme que desce do espinho forma dentro da parede do corpo uma grande célula glandular que apresenta na extremidade apical uma zona radiada condutora da secreção dentro da célula.

e) A hipoderme que desce do espinho é que vai formar o canal condutor da secreção que, saindo da célula glandular, vai ser conduzida e encher tôda a cavidade da mesmo e da cerda.

f) O núcleo é fortemente polimorfo.

g) A peçonha inoculada ocasiona irritações, queimaduras e mesmo flictenas na epiderme do homem.

5. BIBLIOGRAFIA

BARTH, R., 1954 — «Estudos histológicos nas células glandulares dos insetos peçonhentos», I Parte: «Os órgãos urticantes da lagarta de *Authomeris incisa* Walker (LEPIDOPTERA, HEMILEUCIDAE).

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 52:93-142, 13 figs.

BARTH, R., 1954 — «Estudos histológicos nas células glandulares dos insetos peçonhentos», II Parte: «Os órgãos urticantes da lagarta de *Megalopyge albicollis superba* Edwards (LEPIDOPTERA, MEGALOPYGIDAE).

Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 52:125-147, 6 figs.

(Literatura mais ampla veja nos trabalhos citados).

6. ABREVIAÇÕES NAS FIGURAS

ac	canal condutor	ha	hipoderme ascendente
cd	cerda	hd	hipoderme descendente
cg	célula glandular	nha	núcleo hipodermal
cq	espaços cuticulares	ng	núcleo glandular
en	endocutícula	pe	espaços vasios na exocutícula
es	escaminhas	s	saliência em forma de cúpula
es_{1-4}	escaminhas basais	v	vestígios do espaço de inserção
ex	exocutícula	vt	fim do canal condutor
exp	expansões do corpo	zi	zona radiada
f	superfície de encaixe na base da cerda		

UEBERSETZUNG

Histologische Studien an den Druesenzellen giftfuehrender Insekten

III. Teil: Ueber die Druesenfelder der Raupe von Sibine nesea (Stoll-Cramer, 1781) (Lepidoptera, Eucleidae)

INHALT:

1. Einleitung
2. Stechapparat
3. Druesenzelle
4. Zusammenfassung, Summary
5. Literatur
6. Abkuerzungen in den Figuren

1. EINLEITUNG

Im vorliegenden dritten Teil der «*Histologischen Studien an den Druesenzellen giftfuehrender Insekten*» werden die beiden Paare von Druesenfeldern der Raupe von *Sibine nesea* behandelt. Diese Raupe lebt gewoehnlich auf Blaettern von Palmen und Apfelsinenbaeumen, ohne ernsthaften Schaden zu verursachen. Die Abdominalfuesse, die auf den glatten Blaettern nur von geringem Nutzen waeren, degenerierten voellig, so dass der ventrale Teil des Koerpers durch eine stark faltige Flaeche, die sich den Unebenheiten der Unterlage anpassen kann, dargestellt wird. Da die urspruengliche Muskulatur der Beine aber noch nicht voellig verschwunden ist, koennen die Mittelteile der Abdominalsegmente angehoben werden, so dass sie wie Saugnaepfe wirken. Versucht man eine dieser Raupen von einem Blatt abzuheben, spuert man, nachdem man den Vorderteil mit seinen drei Beinpaaren abgeloest hat, einen starken Widerstand, hervorgerufen durch die starken Saugnaepfe. Der plumpe, breite Koerper besitzt in jedem Segment Auswuechse (Fig. 1, exp), auf denen Borsten und Stacheln inserieren. Zu jedem Segment gehoert ein Paar solcher Auswuechse bis auf das 1. und 2. des Thorax und das 7. des Abdomens, die jedes zwei Paare aufweisen. In allen Segmenten des Koerpers bis auf das 1. und 3. des Thorax finden sich diese Hoecker unterhalb der Seitenlinie, waehrend im vorderen und hinteren Teil (1.-3. des Thorax und 7. des Abdomens) das zweite Hoeckerpaar dorsal gelegen ist, so dass beim fluechtigen Hinsehen Kopf und Hinterteil leicht verwechselt werden koennen. Die Druesenfelder sind scharf begrenzt und finden sich: das erste Paar seitlich unten im 7. Abdominalsegment oberhalb des unteren Hoeckers, sich an diesen anlegend, es besitzt als groessten Durchmesser 2,7 mm und als kleinsten 1,5 mm; das zweite Paar findet sich im dorsalen Teil des 9. Abdominalsegments vor dem einzigen hier vorhan-

denen Hoecker, sich diesem ebenfalls anlegend; es ist kleiner als das erste Feld und mehr rund oval mit den Durchmessern 2,0 und 1,5 mm. Die Faerbung der Felder ist dunkelrot und hebt sich deutlich vom klargruenen Untergrund des Koerpers ab.

Die Beruehrung dieser Felder ruft auf der menschlichen Haut Reizungen und starkes Jucken und an den duenneren Hautstellen sogar Verbrennungserscheinungen bis zur Bildung von Blasen hervor. Einwirkungen auf das Nervensystem wurden nicht festgestellt. Diese Erscheinungen sind allgemein bekannt, so dass im Interior die Bevoelkerung zutreffend diese Raupen «lagartas de fogo» (= Feuerraupen) nennt; ausserdem tragen sie den Namen «tatarana» aus der Tupi-Guaraní-Sprache (Synonyme: taturana, tatorana), der sich zusammensetzt aus «tata» = Feuer und «rana» = aehnlich oder vergleichbar mit...

2. STECHAPPARAT

Die gesamte Druesenflaeche ist mit dicht gedraengt stehenden Dornen besetzt, die das Aussehen normaler Borsten zeigen, jedoch lediglich Hautausstuelpungen darstellen. Die Stechborste selbst befindet sich als kleine Spitze am Ende des Dorns (Fig. 3, cd). Sie erscheint auf den ersten Blick als vorgebildete Stelle, wo der Dorn bei Beruehrung durch den Druck abbricht. Sie besitzt eine modifizierte Insertion, wie sie schon fuer *Megalopyge albicollis superba* im 2. Teil dieser Arbeiten beschrieben wurde. Die Basis der Borste verjuengt sich kegelfoermig und passt sich voellig in das Ende des Dornes ein. Reste des Insertionsraumes finden sich in Form kleiner luftgefuellter Raeume, die durch ihre staerkere Lichtbrechung auffallen (Fig. 2 c, v). Von aussen betrachtet bildet die Borste eine Fortsetzung des Dornes, sie verschmaelert sich gleichmaessig zur Spitze, um das Eindringen in die Haut des Feindes zu erleichtern; ihre Wandung ist voellig glatt. In den Fig. 2 a-c sind drei Ansichten der Borste wiedergegeben. Fig. 2 b zeigt eine vom Dorn abgeloeste Borste, sie misst: Gesamtlaenge 36 micra, Laenge des basalen Kegels (f) 7,5 micra, groesster Durchmesser 10,5 micra. Innen (Fig. 2 a) beobachtet man, dass die Hoehlung im basalen Teil schmaler als die des Dornes ist, danach bildet sie eine Erweiterung und verjuengt sich dann fortschreitend, so dass die innere Wand der aeusseren parallel laeuft. Ein Blockdiagramm des Schnittes durch eine Borste zeigt die Fig. 2 c. Bezueglich ihrer Cuticula ist festzustellen, dass sie hart, kraeftig und stark sklerotisiert ist, ohne irgendwelche Strukturen zu zeigen. Als Chitinfaerbung wurde Congorot (1% in 96% igem Alkohol, zwei Stunden bei 60°) verwendet, das jedoch kaum von der Cuticula der Borste aufgenommen wurde, so dass zu schliessen ist, dass der Prozentsatz an Chitin in der Wand der Borste sehr gering ist. Aus der speziellen Insertion und der Haerte der Cuticula geht hervor, dass die Borste nur in seltenen Faellen waehrend des Stiches abbricht.

Dagegen findet sich in den Waenden des Dorns, obwohl er auch hart und skierotisiert ist, ein groesserer Prozentsatz an Chitin; hier zeigen sich auch parallele Lamellen, die auf der gesamten Laenge der Dornwand zu beobachten sind. Der Dorn ist im allgemeinen gerade oder auch ein wenig gebogen, wie in Fig. 3 dargestellt, selten nur bildet er einen staerkeren Bogen. Seine Laenge betraegt im Mittel etwa 510 micra, die Schwankungen um diesen Wert sind nur gering. Bezueglich seines Durchmessers ist zu beobachten, dass er in der Basalregion schmal ist; bald verbreitert er sich und erreicht seine groesste Breite im unteren Viertel, von wo er sich gleichmaessig zur Spitze hin verduennt bis zum Insertionspunkt der Borste. Die Oberflaeche des Dornes, im Gegensatz zu der der Borste, besitzt kleine schuppenartige Auswuechse (Fig. 3, es), die basal groesser sind und zur Spitze hin mehr und mehr an Groesse abnehmen. Diese Schueppchen haben die Neigung, sich eins ueber das andere anzuordnen, auf diese Weise Laengsreihen bildend. Die Innenwaende der Dornen sind glatt und zeigen nur geringe Einbuchtungen, wo sich aussen die Schueppchen befinden. Auf einem Querschnitt durch die Basis des Dorns (Fig. 4) beobachtet man, dass er in dieser Region einen unregelmaessigen, ovalen, grossen Hohlraum bildet, der von einer relativ duennen Cuticula abgeschlossen wird, deren Exocuticula etwa die gleiche Staerke wie die Endocuticula hat. Im gleichen Masse, wie man sich der Spitze naehert, verschmaelert sich der Kanal und verstaerkt sich die Exocuticula, waehrend die Endocuticula duenner und der Querschnitt mehr und mehr rund wird (Fig. 4 b).

An der Basis des Dorns finden sich im allgemeinen vier Auswuechse (es) in Form der genannten Schueppchen, die die Verbindungsbruecke umgeben, die den Dorn mit der Koerperwand verbindet. Sie dienen als Stuetzeinrichtungen, um den Dorn immer in senkrechter Stellung zu halten (Fig. 3). Dieses Prinzip wurde schon an den Duftschuppen von Heliconiinen (BARTH, 1952) und Pieriden (BARTH, 1949) gefunden. Ebenfalls besitzen die Duftborsten von *Agylla argentea (Lepidoptera, Arctiidae)* (BARTH, in Druck) diese Basalfortsaetze, die die Borsten senkrecht halten, so dass der Ausfuehrkanal nicht geknickt und damit unterbrochen werden kann. Hier bei *Sibine* dient diese Einrichtung wohl beiden Zwecken: Die Borste immer senkrecht in wirksamer Stechstellung zu halten und einen Verschluss des Giftkanals an der Dornbasis zu verhindern.

Das basale Stueck, das den Dorn mit der Koerperwand verbindet, ist duenn, aber seine Cuticula ist verstaerkt, so dass das Kanallumen sehr klein ist. Der Kanal setzt sich proximalwaerts in einen kuppelfoermigen Raum fort, der von einer Vorwoelbung der Koerperwand gebildet wird (Fig. 5 und 6, s). Auch dieser Teil zeigt cuticulare Lamellen. Auf dem basalen Umfang der Kuppel besitzt die Koerperwand Depressionen, in die sich die basalen Fortsaetze des Dorns einfuegen (Fig. 5). Die Koerperwand wird von einer grossen Menge cuticularer Schichten gebildet. Durch die verschiedene Intensitaet der Faerbung kann man deutlich die Exo- von der Endocuticula trennen (ex und en). Diese ist immer staerker durch Kongorot gefaerbt als jene. Im oberen Teil der Exocuticula, die eng aneinander liegende Schichten besitzt, finden sich leere Raeume (pc), wie sie in der ge-

samten Exocuticula des Koerpers zu beobachten sind. Diese Hohlraeume erhoehen die Staerke und Elastizitaet der Exocuticula und duerften denselben Effekt haben wie die Metallkonstruktionen oder durchloecherten Ziegel, die heute von der modernen Technik verwendet werden. Die Endocuticula zeigt groessere Lamellen, die oft durch die Hohlraeume (cq), die die Druesenzellen enthalten, aus ihrer horizontalen Richtung in die vertikale gedraengt werden. Die Cuticula der gesamten Druesenfelder besitzt Durchbrueche, die an der Hypodermis als kleiner Kanal beginnen, sich vergroessern, in der Mitte der Cuticula den groessten Durchmesser erreichen, sich dann wieder verjuengen und in der schon genannten Kuppel nochmals sich vergroessern. Auf einem Laengsschnitt (Fig. 6) erweist es sich, dass die cuticularen Hohlraeume nicht voellig senkrecht und zu einander parallel stehen. Das erklaert sich durch die starken Dillatationen zur Aufnahme der Druesenzellkoerper, die sich im allgemeinen unterhalb der Exocuticula finden, andere finden hier keinen Platz und schieben sich unregelmaessig zwischen die ersteren. Dadurch findet man nur sehr selten Anfang und Ende eines Hohlraums auf einem Schnitt. Auf der Druesenflaeche schwankt die Dicke der Koerperwand zwischen 96 micra und 262 micra, einschliesslich der 13-21 micra dicken Exocuticula. Der Kanal (cq), wie schon bemerkt, besitzt einen unterschiedlichen Durchmesser.

3. DRUESENZELLE

Die fuer die histologische Beobachtung verwendete Technik war die folgende: Fixierung nach Bouin in der Modifikation von Duboscq-Brasil zuzueglich 5% HNO_3 waehrend drei Stunden im Unterdruck von 300 mm Hg. Entwaesserung durch Alkohol-Benzol und Einschluss in Gummi-Paraffin. Nach 30 Minuten der Fixierung wurde von dem als Ganzes fixierten Tier der hintere Koerperteil mit den Druesenfeldern abgeschnitten, um die Eindringung des Fixators zu erleichtern.

In jedem Hohlraum der Cuticula (cq) findet sich eine einzelne Druesenzelle. Die Bildung dieser Zelle ist folgende: Die Hypodermis tritt durch den Basalkanal in den Hohlraum der Cuticula ein. Ihre Hoehe ist sehr gering und sie kleidet die Innenwand des Hohlraums voellig aus. Sie besitzt wenige scheibenfoermige Kerne, die sich, je weiter sie in den Hohlraum eindringt, mehr und mehr vergroessern. Im Innenteil der Kuppel ist die Hypodermis sehr duenn und, immer noch niedriger werdend, tritt sie in den Dorn ein. Sie kleidet die basale Hoehlung des Dornes aus und laesst nur einen unregelmaessigen zentralen Durchgang frei, um bald darauf ihre Hoehe wieder zu verringern und sich bis zur Basis der Borste in dieser Weise fortzusetzen. (Fig. 10). Die Kerne im Dorn sind an dessen Basis groesser und haben eine ovale oder runde scheibenfoermige Gestalt, zur Spitze hin werden sie laufend kleiner, bis sie zuletzt nur noch als Reste erhalten und nur mit Schwierigkeiten nachzuweisen sind. Beim Erreichen der Borsteninsertion kehrt die Hypodermis wieder um und legt sich eng an die beschriebene, aufsteigende Hypodermisschicht an. Ihre Hoehe ist ueberaus gering, so dass die Beobachtung ihres kontinuierlichen Verlaufs schwierig ist. Sie laeuft zurueck bis zur Basis

des Dornes, wo sie sich dann aber ein wenig von der aufsteigenden Hypodermis entfernt. Sie durchdringt, den Verbindungskanal zur Kuppel jetzt in Form eines Schlauches und nimmt in deren Hohlraum eine zentrale Lage an. In dieser Schlauchform dringt sie in den grossen cuticularen Hohlraum (cq) ein. Kurz nach dem Eindrngen in diesen vergroessern sich ihre Zellen. Zusammenfassend ist der Verlauf der Hypodermis bis hierhin folgender: Der cuticulare Hohlraum wird durch ein einschichtiges hypodermales Syncitium ausgekleidet, waehrend der kuppelfoermige Raum teilweise und der Dorn bis zur Insertion der Borste von einem zweischichtigen Syncitium bedeckt werden, deren beide Schichten sich mit ihren Basalmembranen mehr oder weniger eng aneinanderlegen. Der apikale, chitinbildende Pol der Zeilen des herabsteigenden inneren Zylinders liegt nach innen gewandt. Da die Innenseite des Kanals der Kuppel und des Dorns scharf begrenzt ist, kann angenommen werden, dass diese Wandung cuticularer Natur ist. Sie ist jedoch so duenn, dass ein mikroskopischer Nachweis nicht zu fuehren ist. Im oberen Teil des cuticularen Hohlraums endet der genannte Kanal und ist blind geschlossen (Fig. 7, vt). Die einzelne Zelle, die das Ende des Kanals bildet, ist die Druesenzelle, waehrend alle anderen Hypodermiszellen von diesem Endpunkt des Kanals bis zur Insertion der Borste am Ende des Dorn als Kanalzellen zu bezeichnen sind.

Die benutzten Farbstoffe, Haematoxylin nach DELAFIELD und nach WEIGERT faerben gut das Protoplasma und den Kern der Zelle und erleichtern das Auffinden der Druesenzellen im cuticularen Hohlraum. Diese nimmt das gesamte Lumen des Hohlraums ein, angefangen von der Uebergangszone zwischen Endo- und Exocuticula bis zur Kanaloeffnung unten, aber sie erreicht nie die eigentliche Leibeshoehle, sondern bleibt innerhalb der Cuticula, d. h. immer oberhalb der Ebene der Koerperhypodermis. Bei der Beschreibung der Druese muss zwischen der Druesenzelle und dem Giftausfuehrapparat unterschieden werden.

Die Druesenzelle ist im allgemeinen langgestreckt, ihr oberer Teil ist staerker entwickelt, zum basalen Teil hin verringert sich ihr Durchmesser laufend. Ihre Formen sind nicht gleichfoermig; ausser der normalen langen Form gibt es relativ kurze oder noch andere, sowohl naeher wie weiter von der Exocuticula gelegene, die einen breiten Koerper besitzen, jedoch eine sehr ploetzliche starke Verringerung ihres Koerpers im basalen Teil erleiden, Beim Betrachten eines Schnittes findet man fast immer alle diese Typen nebeneinander. Das Druesenprotoplasma ist sehr dicht, kompakt, ohne sichtbare Netzstruktur und besitzt nur wenige Vakuolen. Diese letzteren sind entweder Resultate der Vorbehandlug oder aber sie sind durch Herausloesen fester Substanzen (Mitochondrien ?) oder Fluessigkeiten entstanden; in diesem letzteren Falle handelt es sich bei den beobachteten Zellen um ein Vorsekretionsstadium. Auf einem ein wenig tangential gelegenen Schnitt (Fig. 7) erscheint im apikalen Teil der Zelle eine «Strahlenzone». Das Protoplasma dieser Zone ist nur schwach faerbbar, es ist fibrilloes und die Strahlen sind mehr oder weniger radiaer auf den in die Zelle eindringenden Kanal gerichtet. Diese Formation ist normal fuer hoeher entwickelte hypodermale Druesenzellen der Insekten und dient zur Ausleitung des Sekrets. Die Strahlenfigur

der Abbildung 8 b zeigt einen kleinen Ausschnitt aus dem apikalen Teil der Zelle mit der Orientierung der Strahlen auf den Kanal. Die Fig. 6 c ist aus einem tiefer in der Zelle gelegenen Schnitt und zeigt, dass die Zone, obwohl der Kanal staerker geworden ist, mehr oder weniger dieselbe Breite beibehalten hat. Dieser Kanal, wie in Fig. 7 gezeigt, geht nicht tief in die Zelle heinein und endet sackfoermig im Zentrum der Strahlenfigur.

Der Kern der Druesenzelle ist polymorph. Sein basalar Teil ist im allgemeinen zugespitzt. Er vergroessert sein Volumen apikalwaerts, wo er eine unregelmaessige Form mit Filamenten besitzt. In Fig. 9 a und b sind die Umrisse des Querschnittes von zwei Kernen und in Fig. 9 c, d und e die des Laengsschnittes in verschiedenen Ebenen dargestellt, die diesen Polymorphismus deutlich zeigen. Das Chromatin ist normal und zeigt, dass trotz der charakteristischen aktiven Form und in Uebereinstimmung mit dem, was ueber das Protoplasma gesagt wurde, die Zelle noch nicht in ihre volle aktive Phase eingetreten ist.

Der Ausfuehrapparat (Fig. 5 un 7, ac) beginnt schon innerhalb der Druesenzelle. Von hier aus setzt er sich nach oben fort und wird von der von der Borsteninsertion herabsteigenden kanalfoermigen Hypodermis (Fig. 5) gebildet. Ein Querschnitt durch die Region der Kuppel ist in Fig. 8 a dargestellt. Daraus folgt, dass das Sekret, das aus der Zelle austritt, den von der Hypodermis gebildeten Raum ausfuellt, durch den engen Durchtritt am Fuss des Dorns in diesen eindringt, dessen Lumen voellig ausfuellt und zuletzt in die Borste gelangt.

Funktion: Wenn der Feind mit den Druesenfeldern in Kontakt kommt, erleichtern die scharf zugespitzten Borsten das Eindringen des Dornes. Durch ihre starke Insertion bricht die Borste nicht ab, um den Giftkanal zu oeffnen; dieses erfolgt erst an einer Stelle unterhalb der Borsteninsertion an einer schwaecheren, aber nicht vorbestimmten Stelle. Danach bricht der Dorn als ganzes an seiner Basis ab und wegen der rueckwaerts orientierten Schueppchen seiner Oberflaeche bleibt er im Gewebe des Feindes haengen und dringt sogar bei Reiben oder Bewegungen des Opfers weiter in das Gewebe ein, so dass eine wirksame Uebertragung der gesamten Giftportion des Dornes gewaehrleistet ist.

4. ZUSAMMENFASSUNG

a) Es werden die beiden Paare von Druesenfeldern der Raupe von *Sibine nesea* untersucht. Das erste Paar liegt im 7. Abdominalsegment, waehrend das zweite im 9. Abdominalsegment gefunden wird. Beide Druesenfelder sind in Form und Funktion gleichwertig. Sie sind mit Dornen besetzt, die immer senkrecht stehen und den Inokulationsapparat bilden.

b) Die kleine Borste liegt am Ende des Dornes mit einer modifizierten Insertion, so dass sich ihre konische Basis fest in das Ende des Dornes einfuegt.

c) Der Dorn stellt eine Ausstuelpung der Koerperwand dar. Er ist langgestreckt und besitzt auf seiner gesamten Oberflache rueckwaerts gerichtete Schueppchen, die zur Basis hin immer groesser werden.

d) Die aus dem Dorn zurueckkehrende Hypodermis bildet in der Koerperwand eine grosse Druesenzelle, die in ihrem Apikalteil eine Strahlenfigur zur Sekretausleitung besitzt.

e) Die unter d genannte Hypodermis bildet den Ausleitungskanal fuer das Giftsekret, das nach dem Austritt aus der Zelle aufsteigt und den Hohlraum von Dorn und Borste ausfuellt.

f) Der Kern der Druesenzelle ist sehr stark polymorph.

g) Das inokulierte Gift verursacht Reizungen, Verbrennungen und selbst Blasenbildungen auf der Haut des Menschen.

4. SUMMARY

a) The two pairs of glandular plains of the caterpillar of *Sibine nesea* are described. The first pair is situated in the 7th abdominal segment, whilst the second one is found in the 9th abdominal segment. All the glandular plains demonstrate the same form and function. They are garnished with spines which allways remain in a vertical position and represent the inoculation apparatus.

b) The little bristle lies on the top of the spine with a modificated insertion, so that its conical base is fastly fixed into the top of the spine.

c) The spine represents an evagination of the wall of the body. It is alongated and possesses on the whole surface little scales which are turned backward and become greater near the base of the spine.

d) The hypodermis, which returns back from the spine, forms in the wall of the body a voluminous gland cell which possesses in its apical part a radiating figur by means of which is realized the excretion of the secretion liquid.

e) The hypodermis mentioned under d forms the conduct canal of the secretion. After leaving the cell the secretion ascends and fills the cavity of the spine and the bristle.

f) The nucleus is an extremely polymorphical one.

g) The inoculated venom causes irritations, burnings and even formations of bladders in the human epidermis.

5. LITERATUR

(*Siehe am Schluss des portugiesischen Teils*)

6. ABKUERZUNGEN IN DEN ABBILDUNGEN

ac	Ausleitender Kanal	ha	Aufsteigende Hypodermis
cg	Borste	hd	Absteigende Hypodermis
cd	Druesenzelle	nha	Hypodermiskern
cq	Hoehlungen der Cuticula	ng	Druesenkern
en	Endocuticula	S	Kuppelfoermige Aufwoelbung
es	Schueppchen des Dorns	pe	Freie Raeume der Exocuticula
es_{1-4}	Basale Fortsaetze des Dorns	v	Reste des Insertionsraumes
ex	Exocuticula	vt	Ende des ausleitenden Kanals
exp	Hoecker des Koerpers	zi	Strahlenfigur
f	konischer Insertionsteil der Borste		

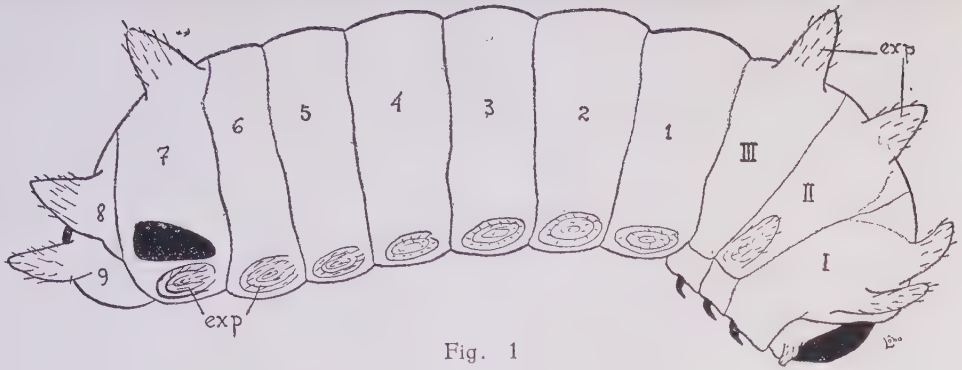


Fig. 1

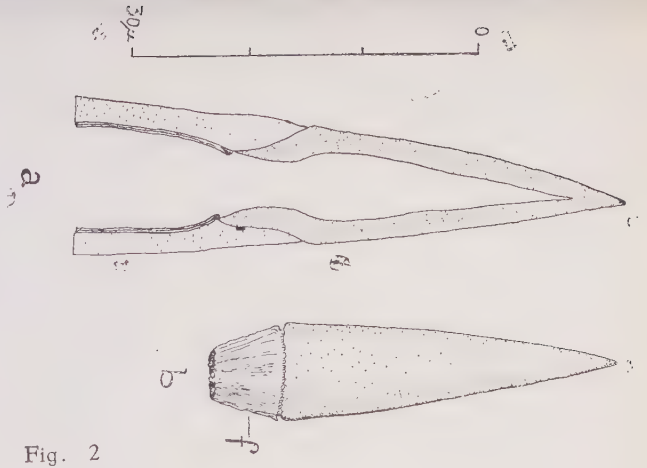


Fig. 2

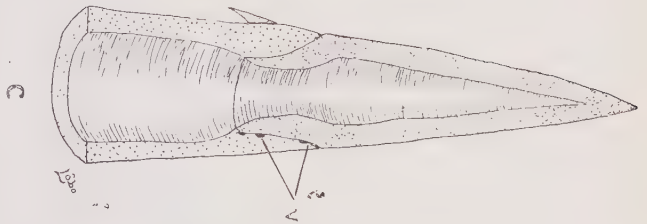


Fig. 1 — Desenho esquemático de uma lagarta de *Sibine nesea* mostrando em negro nos 7° e 9° segmentos abdominais as áreas glandulares.
Fig. 2 — Vistas da cerda: *a*) corte longitudinal; *b*) a cerda isolada; *c*) em três dimensões.
Fig. 3 — Desenho de um espinho mostrando na sua extremidade a cerda.

Fig. 1 — Schematische Zeichnung einer Raupe von *Sibine nesea,* die Druesenfelder im 7. und 9. Abdominalsegment schwarz ausgefuellt.
Fig. 2 — Borste: *a*) Laengsschnitt, *b*) Gesamtansicht, *c*) Blockdiagramm.
Fig. 3 — Dorn mit Borste an seiner Spitze.

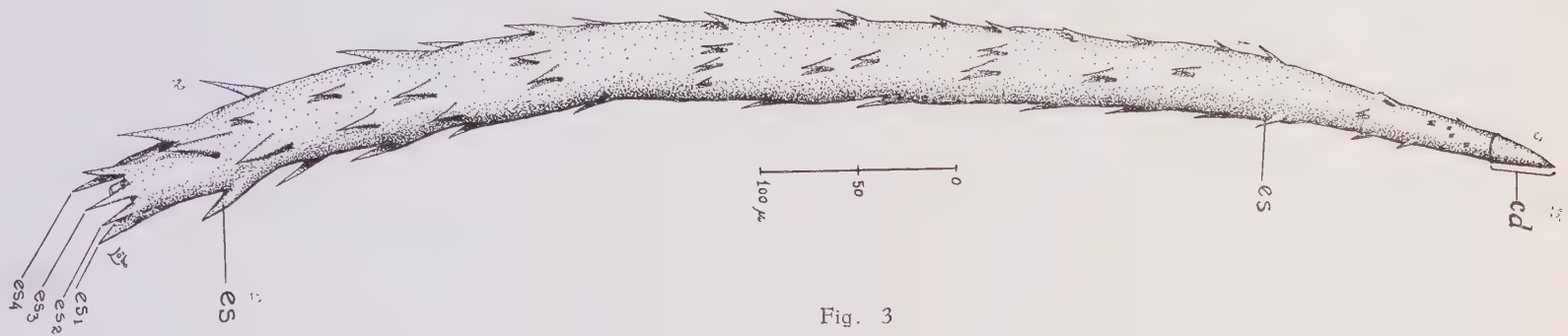
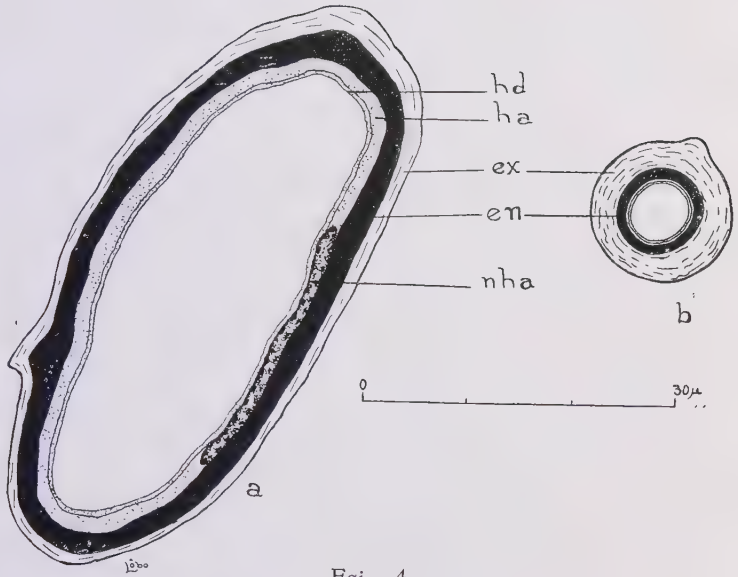


Fig. 3



Fgi. 4

Fig. 4 — Cortes transversais do espinho: *a*) na base; *b*) na ponta.

Fig. 5 — Corte longitudinal mostrando a base e inserção do espinho na superfície do corpo.

Fig. 4 — Querschnitte des Dorns: *a*) an der Basis; *b*) an der Spitze.

Fig. 5 — Laengsschnitt durch Basis und Insertion des Dornes an der Koerperwand.

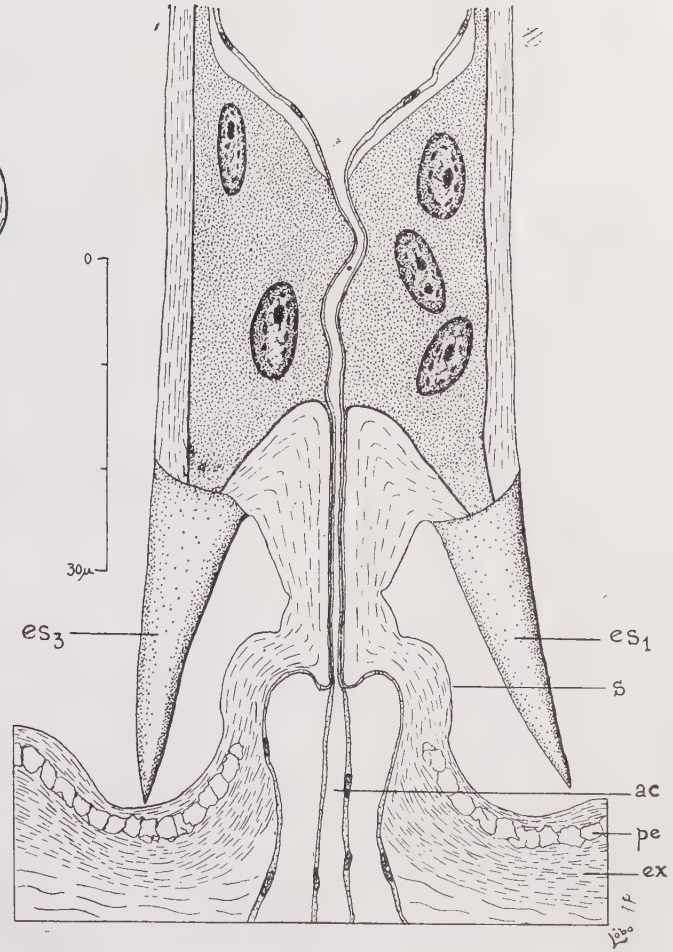


Fig. 5

Fig. 6 — Corte transversal na parede do corpo.

Fig. 6 — Querschnitt durch die Koerperwand.

Fig. 9 — Contôrnos de núcleos: *a*) e *b*) transversais; *c*), *d*) e *e*) longitudinais.

Fig. 9 — Kernumrisse; *a*) und, *b*) im Querschnitt, *c*), *d*) und, e) im Laengsschnitt.

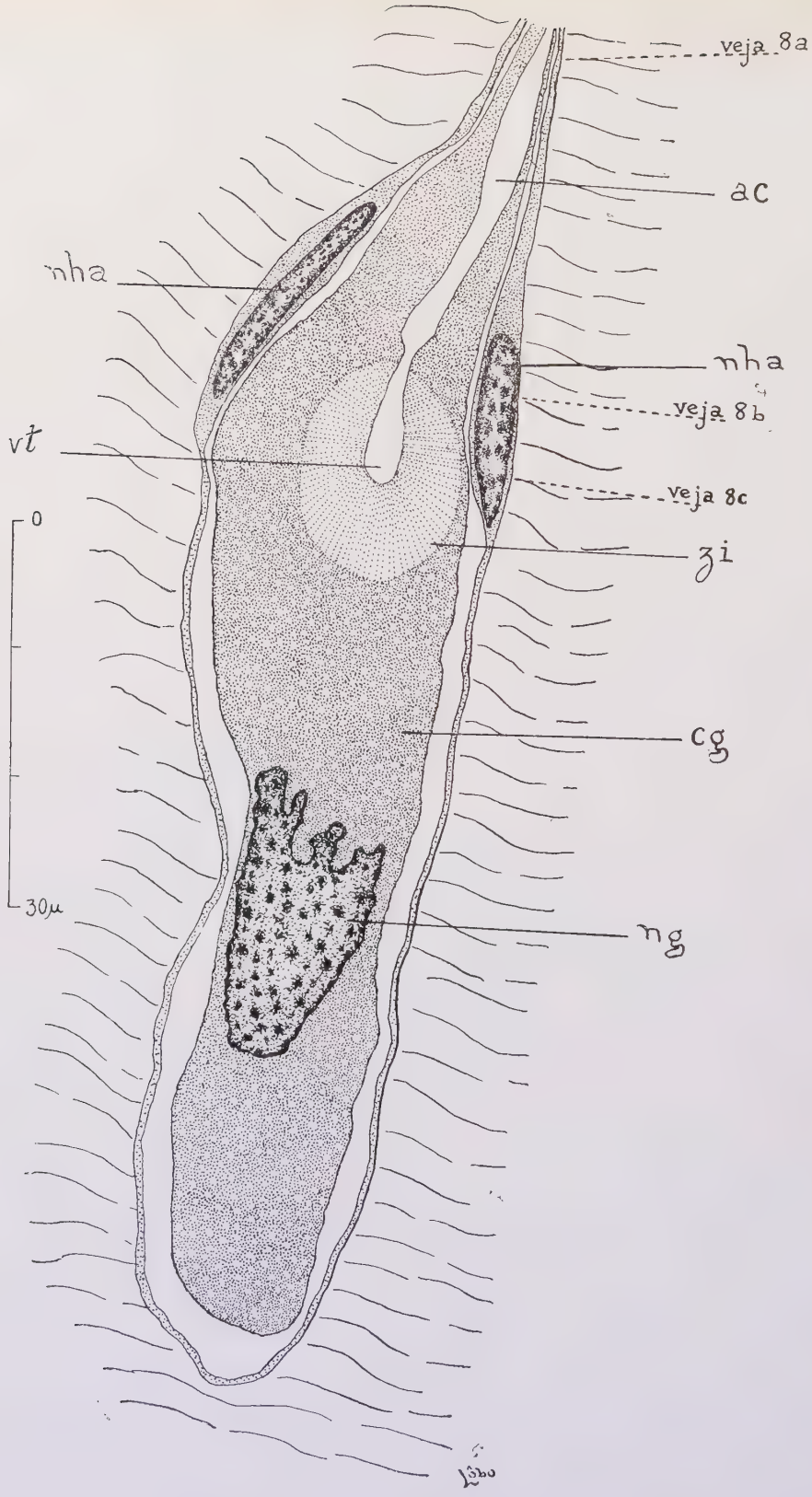


Fig. 7 — Corte diagonal na célula glandular.
Fig. 7 — Diagonalschnitt durch die Druesenzelle.

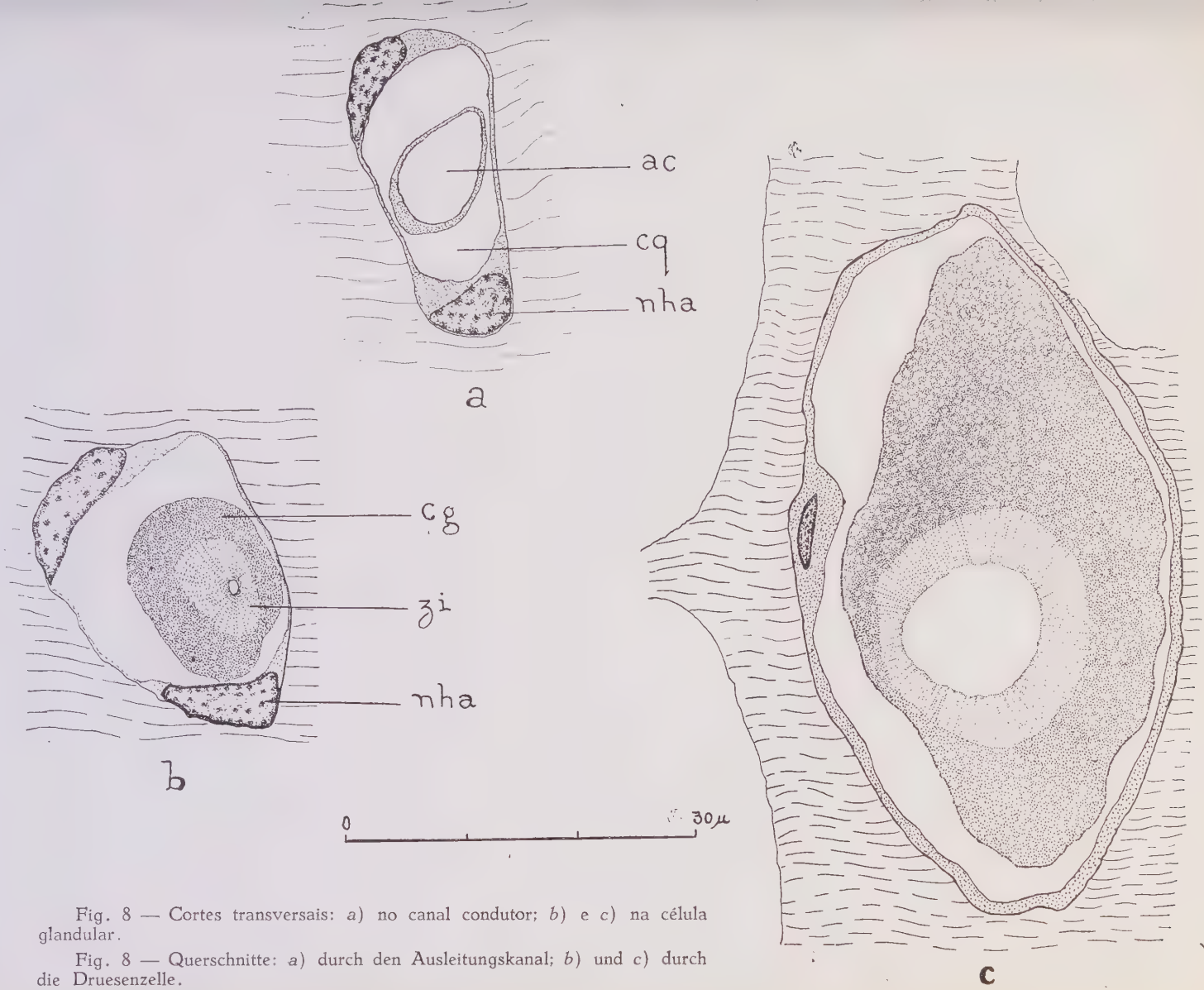


Fig. 8 — Cortes transversais: *a*) no canal condutor; *b*) e *c*) na célula glandular.

Fig. 8 — Querschnitte: *a*) durch den Ausleitungskanal; *b*) und *c*) durch die Druesenzelle.

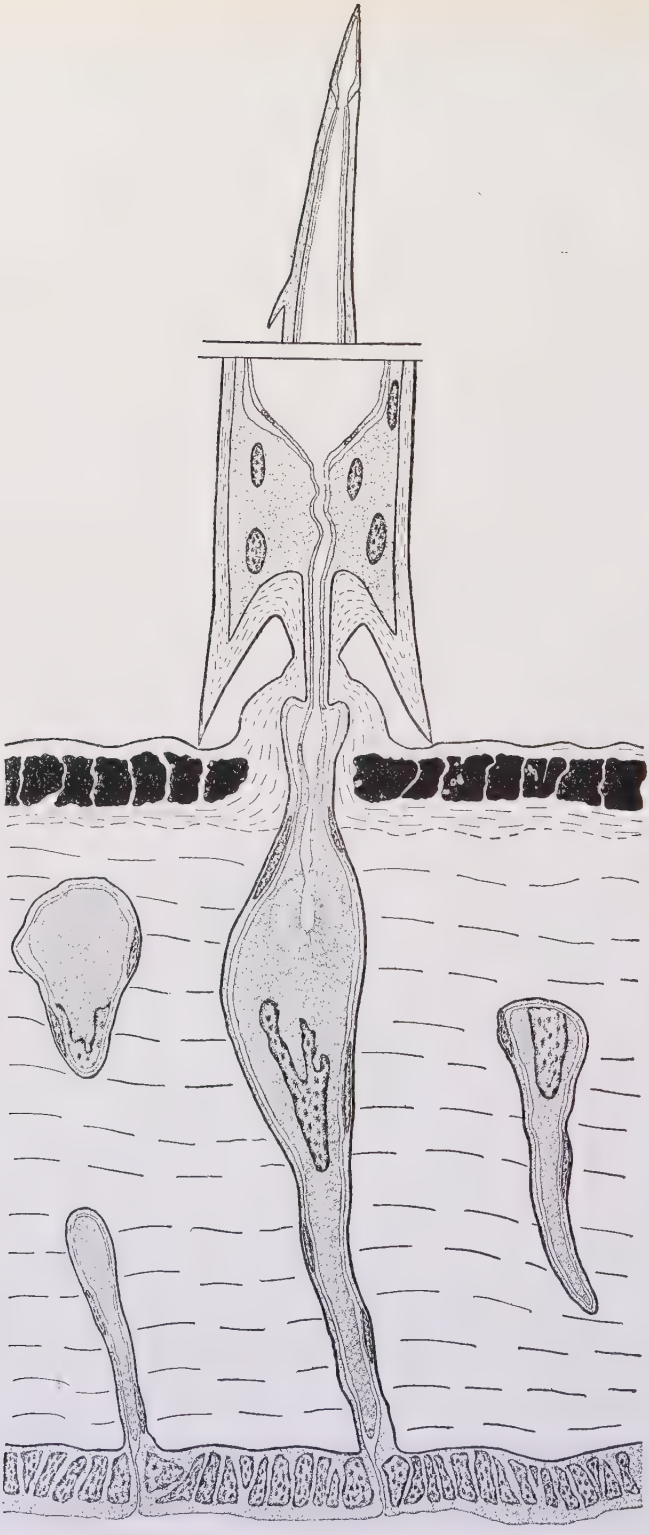


Fig. 10 — Reconstrução do aparelho peçonhento.

Fig. 10 — Rekonstruktion des ganzen Giftapparates.

Estudos Anatômicos e Histológicos sôbre a Subfamília Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)

IV. parte: O Complexo das Glândulas Salivares de Triatoma infestans

por

Rudolf Barth

(Com 54 figuras)

I — Generalidades
II — Anatomia do complexo das glândulas salivares
III — Observações histológicas
  a) Os canais salivares e o hilo
  b) As glândulas salivares
IV — Observações fisiológicas
V — Resumo
VI — Bibliografia
VII — Índices das figuras

GENERALIDADES

Tendo sido descritas, na primeira parte do estudo sôbre o aparelho salivar dos *Triatominae*, (Barth 1952), sòmente aqueles elementos que se encontram no interior da cabeça, resta ainda tratar das partes glandulares e dos canais principais e auxiliares achados dentro do tórax. A cabeça estreita e relativamente pequena, com seu grande aparelho de sucção, não deixa muito espaço para outros órgãos muito volumosos. O lumen da cabeça seria particularmente desfavorável para conter as glândulas salivares pois, em primeiro lugar, elas aumentam ou diminuem nos diferentes estados funcionais e, além disso, a cápsula craniana não pode ser dilatada. Sòmente no tórax e, num ponto bem delimitado, é que há espaço suficiente para conter um órgão cujo diâmetro sofre variações permanentes. Estas variações constituem uma necessidade fisiológica, aliás de grande importância, para a alimentação do animal e, por isso, não podem sofrer interrupção alguma. Um espaço que satisfaz às necessidades citadas está situado nos meso e metatórax (fig. 1) sendo limitado, lateralmente, pelos músculos do vôo,

à frente pela parte mais estreita do lumen do protórax e pela massa ganglionar toráxica e, atrás, pelo proventrículo. O esôfago e proventrículo são estreitos até à entrada do intestino médio; êste, ao contrário, pode ser muito dilatado preenchendo, no caso da repleção alimentar do animal, tôda a cavidade da parte posterior do tórax. Neste espaço situam-se, lateralmente ao sôfago, três pares de glândulas. Freqüentemente, talvez em conseqüência aos movimentos peristálticos intestinais, as glândulas saem da sua posição normal, podendo assim ser encontradas acima ou abaixo do esôfago. Cada complexo, com três glândulas isoladas, tem ligação, por meio de um canal principal (Sg), com a bomba salivar, situada na cabeça. De cada lado, entre as duas primeiras glândulas (D_1 e D_2) encontra-se um hilo complicado do qual nasce um fino canal de ligação (VG), que, depois de uma curvatura pela parte posterior da cabeça, retorna e desemboca do lado externo, na glândula posterior (D_3).

Já existem numerosos trabalhos sôbre a anatomia das glândulas salivares dos Heteroptera. Por êles se observa uma grande variabilidade na estrutura das glândulas das várias famílias; isto, sem dúvida, corresponde aos diferentes modos de nutrição dos Heteroptera (sugadores de plantas, algas e cogumelos, predadores e formas hematófagas). As glândulas dos fitófagos são muito grandes e podem, quando cheias, penetrar profundamente no abdomem. Nos hematófagos as glândulas são menos volumosas, mesmo cheias. Assim, a quantidade de saliva que durante a picada é injetada no tecido vegetal é consideràvelmente maior que a das formas hematófagas. Anatômicamente esta diferença se manifesta pelo diâmetro dos canais salivares das maxilas, que nas formas fitófagas algumas vêzes são maiores que nas hematófagas. Nos predadores que, ràpidamente injetam úma quantidade relativamente grande de saliva, com efeito tóxico, encontramos um diâmetro médio. Sôbre o efeito da saliva dos fitófagos Zweigelt (1914) publicou observações fundamentais e, em parte, convincentes. Um paralelo para êste trabalho representa, em certos pontos, o de Fauré-Fremiet (1910), sôbre os predadores.

Nas descrições anatômicas, em geral, se fala tanto quanto fitófagos, como aos predadores, em apenas dois pares de glândulas, dos quais o posterior, de acôrdo com todos os trabalhos, apresenta uma estrutura uniforme enquanto que no par anterior se diferenciam duas ou três partes distintas com diversas formas celulares. Elas se encontram espalhadas formando a parede de uma cavidade glandular, ou, então, cada tipo de célula forma partes bem delimitadas que, muitas vêzes, se intercomunicam por canais finos e curtos. Como exemplo podem ser citadas as células «principais» e «auxiliares» de *Aphis fabae* (1908, Weber) e a glândula trilobada de *Naucoris cimicoides* (1910, Fauré-Fremiet).

Nos hematófagos foram descritos dois tipos de glândulas, o tipo de *Cimex* e o de *Triatoma*. O primeiro (veja os trabalhos de Puri, Cornwall e outros mais antigos como os de Bordas e Landois) compõe-se de dois pares de glândulas. Enquanto Murray e outros consideram a glândula posterior como reservatório da primeira, Cornwall e Puri descreveram-nos como um órgão glandular verdadeiro. A glândula anterior dêste tipo, se-

gundo a literatura atual, é simples e, sem subdivisões. Do segundo tipo, encontrado em Triatomíneos, até agora foi feita apenas uma descrição superficial por Barreto (1922). O autor diferencia três pares de glândulas, considerando os dois posteriores como reservatórios para a secreção do par anterior. Das observações que se seguem conclui-se que o complexo das glândulas salivares dos Triatomíneos compõe-se histológica e fisiológicamente de três glândulas bem diferenciadas.

Um resumo comparativo, sôbre os vários tipos das glândulas descritas, é encontrado no seguinte quadro :

ESPÉCIE/AUTOR	PARTES DA GLÂNDULA LABIAL		
	1.ª	2.ª	3.ª
Aphis fabae (*Homoptera*) Weber	glândula principal: células secundárias	glândula principal: células principais	glândula auxiliar
Plesiocoris rugicollis Smith	glândula principal: lobo anterior	glândula principal: lobo posterior	glândula auxiliar
Notonecta maculata et *Ranatra linearis* Bugnion	glândula principal: lobo anterior	glândula principal: lobo posterior	glândula auxiliar (reservatório)
Cimex lectularius Puri	glândula salivar em forma de pera		glândula salivar em forma de coração
Triatoma megista Barreto	glândula principal	glândula suplementar (reservatório)	glândula auxiliar (reservatório)
Triatoma megista et *Triatoma infestans* et *Triatoma sordida* Barth	glândula (D 1)	glândula (D 2)	glândula (D 3)

No final do quadro encontram-se as abreviações usadas neste trabalho. Seu emprêgo foi necessário para dar uma idéia completa do complexo glandular pois, tôdas as três glândulas têm o mesmo valor funcional, de modo que não se pode falar de glândulas principais e auxiliares. A secreção injetada no tecido é formada pelas três secreções das glândulas que se juntam, dentro do hilo, entre D 1 e D 2. Sendo múltiplas as funções da secreção no tecido do hospedeiro e complexa a sua composição (veja FAURÉ-FREMIET) conclui-se que a mesma não pode ser produzida por uma única espécie de célula glandular mas sim, o será por um certo número de células diferentes. Em Triatomíneos êstes três componentes formam as glândulas D 1 à D 3 e só um exame fisiológico pode dizer qual das glândulas a que tem secreção mais importante.

ANATOMIA DO COMPLEXO DAS GLÂNDULAS SALIVARES

A disposição anatômica das glândulas salivares de *Triatoma infestans* é demonstrada pelo corte transversal (fig. 2), pelo desenho anatômico (fig. 3) e pelo esquema (fig. 4). O canal GG na fig. 4, que sai da bomba salivar (SP), ainda perto da bomba, ramifica-se em dois outros iguais (SG e SG nas figs. 3 e 4). Êstes canais, que se podem denominar de canais salivares principais, atravessam a cabeça em linha reta (para maiores detalhes veja BARTH, 1952) e entram, pelo *foramen occiptalis*, no tórax. Êles acompanham o esôfago por todo o protórax, encostando-se, muitas vêzes, lateralmente, ao mesmo, mas sem qualquer ligação direta com êle. Às vêzes, os canais são separados do esôfago por partes da camada visceral do corpo gorduroso. No mesotórax, em geral na parte anterior do mesmo, muitas vêzes também já no fim do protórax e, raras vêzes, no metatórax, os canais atingem os dois pares de glândulas. A glândula anterior (D 1) encontra-se em geral lateralmente ao esôfago ou ao proventrículo (PV); a mediana (D 2) situa-se, em comparação com D 1, mais para dentro e sempre mais perto do proventrículo, por cima ou por baixo dêste (fig. 3). Pode-se observar que nem sempre a posição das glândulas e canais é a mesma; correspondendo ao estado alimentar, ao volume das glândulas e do intestino e, ao estado evolutivo, os componentes muitas vêzes são consideràvelmente deslocados. Pode-se observar especialmente uma translocação imediatamente antes da muda pela formação nova das maxilas e mandíbulas que, nesta fase, penetram profundamente no tórax ocupando com as suas extremidades aumentadas e em forma de espiral, uma grande parte da cavidade toráxica anterior.

Entre as duas glândulas D1 e D2 o canal salivar principal entra no hilo (fig. 4, HI). Na parte inicial do hilo nasce um canal mais fino representando o canal secundário (fig. 3 e 4, VG), que vai do hilo à glândula posterior (D 3). Êle corre paralelamente ao canal principal (muitas vêzes firmemente encostado à êle) em direção à cabeça, entrando na mesma e se voltando sùbitamente (180°). Êste ponto está localizado na parte posterior da cabeça por trás dos ocelos, ponto êste onde a cabeça é estreitada formando um pescoço. Daí o canal secundário corre para trás, sempre

nitidamente separado do canal principal e da sua própria parte inicial. A parte descendente situa-se mais perto da parede da cabeça, penetra novamente no tórax e dirige-se, divergindo mais fortmente, para trás, até ao metatórax. Aqui aproxima-se lateralmente da glândula posterior (D 3) atingindo-a quase na metade e nela desembocando. A disposição dos canais é apresentada nas figs. 5 à 7.

O aspecto externo das três glândulas é bem diverso. Não podem ser citadas medidas absolutas pois, tanto o comprimento como o diâmetro, de acôrdo com o ritmo de trabalho, sofrem oscilações periódicas notáveis. Tôdas as três glândulas representam vesículas formadas por uma camada unicelular de células glandulares revestidas externamente por uma membrana peritoneal provida de músculos.

A D 1 sempre é reniforme; o lado côncavo está voltado para o proventrículo (figs. 3 e 8). Nesta pequena depressão encontra-se o hilo; da parte anterior dêste nasce o canal secundário que se dirige para a D 3, no seu lado parietal abre-se a D 1 e no lado visceral a D 2 (figs. 4 e 9). Estando situada a abertura da D 2 na parte anterior e a da D 1 na parte central da vesícula glandular (fig. 9), as duas glândulas estão dispostas de maneira tal, que na série de cortes transversais, a D 2 sempre surge depois e, em conseqüência, apesar de ser mais curta que a D 1, ainda se estende mais para trás. Assim existe um espaço suficiente para permitir a expansão dos dois pares de glândulas quando cheios.

Em tôdas as fases a D 2 é consideràvelmente menor que a D 1 (fig. 8). A sua forma é irregularmente oval; na parte anterior, em geral, mais estreita que na posterior. O seu canal excretor encontra-se no lado externo da parte apical e desemboca no hilo.

A forma da D 3 é a de uma oval, mais comprida ou mais curta, variando com o grau de repleção porém, sempre com contôrnos regulares. Ela está situada atrás das D 1 e D 2 em direção ao abdomen, aos lados do proventrículo, que, na altura do fim da glândula, passa para o mesêntero. O proventrículo é mais grosso que o esôfago, mas não é muito dilatável de modo que sobra um espaço suficiente para permitir a distensão da D 3. Quando cheia, a D 3 penetra profundamente no protórax.

As três glândulas estão recobertas por uma rêde de traquéias e traquéolas ricamente ramificadas. Estas representam terminações de um ramo de traquéias que nascendo no espiráculo do mesotórax atinge a D 3 pelo lado posterior nutrindo as três glândulas e a parte vizinha do intestino, bem como aquelas partes do corpo gorduroso situadas entre, ou aos lados das glândulas. O último ramo, na fig. 8, é indicado por FK. Já FAURÉ-FREMIET, em relação aos *Hidrocorídeos*, chama a atenção para a intensa oxigenação o que que indica deva ser também a D 3 uma glândula ativa não representando apenas um reservatório como foi descrito por outros autores.

Apesar de, na literatura ,algumas vêzes ter sido mencionada a presença de um hilo ainda não existe uma descrição mais detalhada de qualquer tipo. Apenas BUGNION (1909) reproduz um desenho de «*l'isthme*» entre os lobos anterior e posterior da glândula anterior de *Graphosoma lineata*, com

células especializadas que o circundam, em forma de anel, e com músculos que atingem as entradas do mesmo indicando assim, de uma forma qualquer, a existência de válvulas. Êle não dá maiores detalhes sôbre esta formação.

Em *Triatoma infestans* os canais excretores das três glândulas se reunem num hilo de formação complexa, cuja situação é apresentada nas figs. 4 e 9, a sua microanatomia nas figs. 10-21. A série começa na fig. 10 com o ponto, onde o canal secundário para a D 3 se encosta no canal principal e as membranas basais dos dois canais se reunem, isto um pouco antes do centro da D 1. Chegando mais para trás, nesta série, os dois canais justapõem-se (fig. 11) ligando-se com a D 1 por meio de células da camada peritoneal da mesma glândula (figs. 11 e 12). Ao mesmo tempo observa-se neste ponto de ligação uma concentração de fios musculares que, por sua vez, formam uma rêde na superfície da D 1 (MUV em fig. 12). Os dois canais se comunicam (fig. 13) formando uma cavidade comum (CV). Nesta altura o peritôneo (uma massa sincicial com pequenos núcleos) e a hipoderme do canal delimitam uma fenda (SP_1) com parede forte e quitinizada. SP_1 desemboca (fig. 15) no lumen da D 1. O bordo da abertura mantem ligação por meio de tonofibrilas com os músculos da superfície da glândula (TO na fig. 15). Um canal curto, de parede quitinizada com reforçamentos anulares bem visíveis, liga a fenda mencionada com a cavidade (CV) formada pela fusão dos dois canais. Imediatamente abaixo dêste canal nasce outro, de mesma formação, com um diâmetro pouco maior, que — em direção à D 2 e inclinado obliquamente para trás — entra numa fenda (SP_2) da camada peritoneal (figs. 18 e 19). Do lado externo encostam-se à parede desta cavidade as primeiras células da D 2. Esta glândula, também, é completamente revestida por uma rêde de fios musculares. Êstes fios concentram-se nesta altura e entram em ligação, por meio de curtas tonofibrilas, com o bordo de um canal pelo qual o lumem da D 2 se comunica com o hilo (fig. 20). Desta maneira é formada aqui uma válvula correspondente à existente entre a D 1 e a primeira fenda SP_1. Todos os canais e espaços do hilo estão revestidos por uma camada mais ou menos espessa de quitina, apresentando os mesmos reforçamentos anulares típicos que foram encontrados na cutícula de todos os canais salivares. A quitina termina nas duas passagens do hilo para as cavidades das glândulas, justamente no lugar onde as tonofibrilas dos músculos atingem o bordo das aberturas, isto é, no centro das válvulas. Pela distribuição da quitina e das músculos pode-se supôr que todo o hilo é formdo pela reunião das partes terminais dos canais salivares (principal e secundário). Em seguida o hilo foi circundado pelas células dos invólucros peritoneais das glândulas formando, desta maneira, um corpo bem compacto entre as duas glândulas.

Os bordos das duas aberturas das cavidades glandulares representam válvulas as quais aparentemente são reguladas por uma ação muscular. A microanatomia das válvulas pode ser reconstituída por meio de série de cortes transversais acima descrita. Um aspecto da válvula da D 2, visto de cima, em corte tangencial é representado pela fig. 22. Sôbre as células glandulares, de grandes núcleos, estão situados muitos feixes musculares, em forma de estrêla, orientados em direção à abertura do hilo e ligados ao bordo da mesma por meio de tonofibrilas. A interpretação da função não

deixa dúvidas : pela contração da musculatura a válvula é aberta e pelo relaxamento da mesma ela se fecha em conseqüência da elasticidade da parede quitinosa das fendas do hilo e da pressão geral exercida pelos tecidos. Isto indica que as válvulas em repouso mantêm fechado o lumen das glândulas evitando, assim, uma saída de secreções. Correspondendo às formas dos músculos as válvulas são denominadas válvulas estelares (SV): a que se encontra entre o hilo e a D 1 indicada por SV_1 e a entre o hilo e a D_2 por SV_2.

Os músculos que se inserem nas SV representam feixes relativamente grossos. Acima da parede das glândulas êles se ramificam e a cobrem com uma trama formada por fios muito finos. Constam apenas de miofibrilas isoladas tendo só pouco contacto entre si (fig. 23). A estriação transversal é nítida e sempre possui o diafrágma Z. Histològicamente quanto às estrutura, situação e forma apresentam o mesmo aspecto da musculatura do intestino (mesêntero). Anatômicamente quanto à função, a presença de músculos da forma descrita indica que, por um estímulo que induza à contração dos fios da rêde muscular, os músculos das SV se encurtam concomitantemente. Se agora as duas glândulas forem levadas a expelir as duas secreções, estas sempre encontram as válvulas abertas, fechando-se as mesmas automàticamente com o relaxamento da rêde muscular, o que se verifica no término do lançamento das secreções. Disto resulta a necessidade de se esclarecer a inervação da musculatura das glândulas.

Não foi encontrada uma ligação nervosa ao gânglio toráxico. Sabendo-se que, do ponto de vista da anatomia comparada, as glândulas salivares dos «*Rhynchota*» representam as glândulas labiais e, assim, sendo órgãos homólogos às glândulas de sêda dos *Lepidópteros* e de outros insetos, foi procurada uma ligação entre as glândulas e as partes posteroires do gânglio subesofagiano. Na altura da terceira comissura dêste (comissura labial) nasce um par de nervos fortes (*nervus labialis*) que se dirige imediatamente para a frente e corre, no começo, aos lados e depois por baixo das traquéias principais da cabeça, em direçãa ao eixo longitudinal até atingir a extremidade da mesma. Agora êste par de nervos entra no espaço sob o faringe, espaço êste limitado em cima pela parte ventral do faringe, aos lados pelos tentórios e pelas tonofibrilas dos mesmos e, em baixo, pela parede da gula. Nela também se encontram as traquéias longitudinais e os dois canais salivares que conduzem para a bomba salivar. Na extremidade da cabeça os dois nervos entram no lábio e percorrem o mesmo até à ponta, formando numerosas ramificações. Na divisa entre gânglios subesofagiano e nervo labial nasce um par de ramos finos que imediatamente se encosta ao canal salivar principal (SG) sendo ligado ao mesmo por meio de uma membrana peritoneal (fig. 24). Êste nervo, provàvelmente, representa a «traquéia» mencionada por Cornwall (1922) em *Cimex rotundatus*. (À respeito dos canais principais êste autor escreveu : «*External to each duct lies a trachea*»). Dêste ponto até ao hilo das glândulas salivares o *nervus glandulae labialis* (alias salivares) encosta-se sempre firmemente aderido ao canal (fig. 24). Não pôde ser encontrada uma ligação entre o sistema dos nervos viscerais e o

sistema salivar. Também não foi verificada uma comunicação entre o nervo ímpar e as glândulas salivares. Filogenèticamente as glândulas salivares pertencem ao segmento labial e então a inervação acima descrita é conseqüentemente a lógica. Do ponto de vista funcional, o sistema salivar necessita de uma inervação por meio de linhas motor-sensitivas com o fim de orientar a atividade das rêdes musculares das paredes das vesículas glandulares e das duas válvulas no hilo, coordenando-as com os movimentos da bomba salivar.

Imediatamente antes do hilo, no lugar onde nasce o canal secundário (VG) para a D 3, sai, do *nervus glandulae salivaris*, um forte ramo cujo diâmetro, medido numa fêmea, era de 7 micra (material fixado, com quase 27% de redução do volume). Esta ramificação encosta-se na parte ascendente de VG, voltando-se com o último para a cabeça, deonde com o ramo descendente de VG, estende-se até a D 3, ramifica-se na válvula da D 3 dando numerosos fios que se espalham sôbre a superfície da glândula. Poucas micra abaixo da saída do ramo para a D 3 o nervo da glândula salivar divide-se formando numerosas terminações finas das quais parte se estende sôbre a superfície da D 1 e parte sôbre a da D 2.

A estrutura da válvula, na saída da D 3, é muito diferente da das D 1 e D 2. A fig. 25 mostra um corte longitudinal, passando pela entrada de VG na D 3; nas figs. 26-30 estão representados os cortes transversais, em série, feitos na mesma altura. O canal adere firmemente à parede da glândula (figs. 26-28). Encontram-se no seu protoplasma numerosas tonofibrilas anulares. Estas não são encontradas nas demais partes do canal; êste, entretanto, possui em tôda a sua extensão, até a válvula, reforçamentos anulares de natureza cuticular. Êstes anéis têm uma arrumação regular e são sempre bem visíveis. Na entrada da glândula as partes protoplasmáticas da parede do canal aumentam (figs. 29 e 30) formando dobras e saliências com numerosos núcleos e limites celulares bem nítidos. A estas expansões vêm ter os ramos das tonofibrilas anulares reforçando, desta maneira, a formação das citadas dobras. Quando em repouso, devido às tonofibrilas e à elasticidade dos tecidos (*tonus celular*), as dobras se justapõem entre si, fechando a desembocadura do canal na cavidade da glândula. A obliteração é completada pela pressão exercida pela quantidade de líquido do interior da cavidade glandular; êle comprime as dobras e as saliências indo as mesmas penetrar na cavidade, constituindo assim uma válvula. A abertura desta, que apresenta uma forma modificada das válvulas estelares que são encontradas nas outras duas glândulas, verifica-se por uma simples ação muscular. Em virtude disto, tôda a glândula é coberta por um sistema de fibras musculares muito delgadas irradiando-se a partir do orifício do canal em tôdas as direções .Os fios são muito finos no lado externo da glândula e, para o interno, vão-se reunindo formando elementos mais grossos. Não foram observadas anastomoses como as descritas na superfície das duas glândulas anteriores. Na fig. 32 está representado uma fibra muscular, vista de cima, com uma ramificação. O sarcoplasma do músculo estriado, com o

diagrama Z bem visível, diferencia-se nitidamente, por sua grande densidade, do protoplasma da célula glandular, situada mais em baixo; seu sarcolema é bem distinto. Na parte inferior desta figura, foram atingidos pelo corte 4 núcleos musculares e, do lado esquerdo, um núcleo glandular. Uma contração do sistema muscular da glândula aumenta não sòmente a quantidade de líquido expulsa da cavidade glandular, como também, simultâneamente, provoca a abertura da válvula. A inervação é feita pelo ramo do *nervus glandulae salivaris*, já acima descrita.

Com isto ficou provada, a presença de válvulas, músculos, bem como, a inervação pelo gânglio do lábio em tôdas as três glândulas.

Função

Pela presença de músculos, válvulas e inervação comum para as três glândulas, fácil se toma a interpretação da função do complexo glandular. No início do reflexo de sucção, além da bomba faringeana, também a bomba salivar começa o seu trabalho rítmico. Ela suga a saliva pelos canais salivares que nela entram reunidos, na sua extremidade (SG). Quando a musculatura do pistilo relaxa, a saliva é conduzida para a hipofaringe, graças à elasticidade da parede da bomba salivar, donde entra no canal salivar das maxilas. No momento da picada a bomba terá que fornecer uma grande quantidade de saliva. Sendo os canais salivares muito estreitos a sucção levaria muito tempo até encher tôda cavidade. A freqüência do rítmo da bomba foi observada em exemplares de *Bacterodes sp.* (predador) e é de mais ou menos de 1-1,5 movimentos por segundo .Pode-se supor que nos Triatomíneos seja obedecido o mesmo rítmo. Indiretamente é possível observar os movimentos da bomba nestes animais paralisando um exemplar, pelo clorofórmio e, observando-o com o rostro esticado para a frente, com um ligeiro aumento no binocular. Nesta posição as extremidades dos estiletes aparecem fora do lábio e pode-se constatar que pela ponta das maxilas sai, rìtmicamente, uma pequena quantidade de líquido (saliva). A freqüência foi medida mas os valores obtidos variavam muito em conseqüência da droga usada para a anastesia. Na maioria dos casos uma pulsação levava um segundo ou pouco menos.

O enchimento da bomba salivar é facilitado pela musculatura das glândulas salivares mesmo, apressado pela mesma .Assim, temos que supor que nos inícios do reflexo de sucção, simultâneamente com a do trabalho da bomba, há uma contração de tôda a musculatura das três glândulas, disto resultando a abertura das válvulas e um aumento na pressão da saliva que sofre um movimento em direção à bomba salivar. Além disto os três componentes da saliva são misturados nas fendas do hilo devido ao aumento de tensão. Sem esta pressão a composição da saliva variaria pois os caminhos entre as três glândulas e o hilo têm comprimentos diferentes. O aparecimento de um arco reflexo é relativamente simples de ser compreendido pois, quanto na constituição do reflexo de sucção, trata-se de uma colaboração entre a extremidade do lábio, a bomba salivar e as glândulas salivares, parte pertencentes ao segmento labial.

OBSERVAÇÕES HISTOLÓGICAS

a) Os canais salivares e o hilo

A estrutura histológica dos dois canais salivares e do hilo é, em geral, a mesma. O canal principal (fig. 33), entre a bomba salivar e o hilo, de seção transversal circular, consta de um tubo cuticular incluído por um cilindro protoplasmático relativamente espesso. Êste tubo possui uma parede muito fina cujo lado interno é revestido por anéis paralelos transversais equidistantes. Êstes reforçamentos anulares podem ser confundidos com traquéias, entretanto, existe uma diferença básica : a traquéia possui um fio espiralado que percorre uma grande parte da mesma sem interrupção e pode ser destacado inteiramente do tubo quitinisado; ao contrário, o canal salivar tem fios curtos que completam só uma ou algumas voltas. Assim, o tubo, visto de cima, apresenta numerosos fios interrompidos e apenas poucos anéis completos (fig. 36). Além disto o tubo protoplasmático de canal é em geral muito mais espêsso que a hipoderme de uma traquéia. O material cuticular da parede do tubo salivar tem uma quitina não fortemente esclerotisada e com grande afinidade para vermelho congo, enquanto que os anéis são muito mais esclerotisados e não se impregna pelo citado corante. Os anéis são muito quebradiços e fàcilmente destruídos por pressão. O efeito fisiológico dos reforçamentos é o mesmo observado nas traquéias: o canal possui bastante resistência para não ser dobrado nem fechado, contudo, não perde a sua flexibilidade. A estrutura dos canais salivares dos *Triatomíneos* é análoga à da traquéia dos mamíferos na qual os reforçamentos também não formam um fio espiral mas, sim, apenas anéis.

O protoplasma do canal principal atinge uma espessura relativamente grande correspondendo, num animal normalmente alimentado, a quase 2-3 diâmetros do núcleo. Em geral os núcleos têm uma forma esférica com um diâmetro de 4-6 micra. Apresentam o aspecto normal de um núcleo em repouso com uma cromatina muito compacta e acumulada na parede. Durante a fase de muda da cutícula, entretanto, os núcleos crescem consideràvelmente por enriquecimento do líquido nuclear e um nítido aumento dos elementos cromáticos. Nesta fase o protoplasma possui granulações extremamente finas e apresenta, depois de uma fixação alcoólica, uma estrutura vacuolar. Depois da muda altera-se esta estrutura e formam-se fios com anastomoses e com disposição radial. Os limites celulares não foram encontrados nem na fase de muda. A membrana basal é relativamente forte. Fixado ao lado do canal sempre se encontra o *nervus glandulae salivaris* (nGL), com muito neuroplasma.

O canal entre hilo e a D 3 (VG) diferencia-se do canal principal apenas pelo seu menor diâmetro e, pelo tubo protoplasmático sincial de paredes mais delgadas e de uma espessura de 2-4 micra. Os seus núcleos estão fortemente achatados (figs. 34-36). A abertúra de VG na D 3 é representada na série das figs. 26-30. O protoplasma do VG diferencia-se nìtidamente do protoplasma vacuolar da célula glandular devido à sua consistência densa. É atravessado por tonofibrilas anulares e possui núcleos menores que os das

células glandulares. O bordo interno da abertura da D 3 é aumentado por dobras e saliências inclinadas para a cavidade da glândula formando, assim, uma válvula (veja acima).

O hilo apresenta, histològicamente, o mesmo aspecto dos canais salivares. Também as paredes de suas cavidades, fendas e espaços são revestidas por reforçamentos anulares evitando o seu fechamento quando sob a ação de uma pressão. Muitas vêzes as estruturas radiais do manto protoplasmático se apresentam tão nitidamente fixadas que parecem ser limites celulares (fig. 15). Dentro da hipoderme do hilo encontram-se numerosíssimos núcleos pequenos. Aparentemente o hilo é recoberto por uma camada fina da membrana peritoneal da glândula. Nos pontos onde os canais salivares reunidos (SG e SV) se aproximam da glândula (figs. 12 e 13), êles se prendem à mesma por meio de um ligamento celular do mesmo material que forma a membrana muscular do hilo. Êste pequeno complexo de tecido, de origem aparentemente mesodérmica, possui limites celulares e núcleos ainda muito menores que os da hipoderme dos canais. Aí vão ter os músculos das válvulas estelares (figs. 13 e 14, MU), que ligam os bordos destas à superfície das glândulas. Um pouco mais abaixo as células peritoniais penetram na camada das células glandulares, formando, assim, o bordo da abertura das válvulas estelares (SV). Os filamentos musculares terminam antes dêstes bordos mas se continuam, sob a forma de tonofibrilas atravessando as células peritoneais e ligando os músculos aos bordos citados. É interessante chamar a atenção para as células peritoneais que não possuem nenhuma formação cuticular às suas partes apicais, o que quer dizer que a formação das válvulas, sem dúvida, se faz por material de origem mesodérmica (fig. 15). Isto indica, por um lado, que a parte ectodérmica do sistema glandular termina neste ponto (no comêço da válvula estelar) e, por outro, que as células glandulares não podem ser da mesma origem pois, nada leva a supor que a ectoderme comece novamente depois desta interrupção. No ponto de passagem do hilo para a D 2 encontramos a mesma formação como na D 1. Na abertura de VG a D 3 também pode-se notar o mesmo fato pois, as células que formam as dobras da válvula, não possuem um revestimento cuticular. Entretanto, a diferença entre os dois tipos de tecidos não é tão nítida como nas outras duas glândulas.

b) As glândulas salivares

O aspecto histológico das células glandulares se modifica nas diferentes fases da secreção. Para se ter uma idéia mais precisa sôbre o rítmo de função das glândulas, foram feitas observações em série, por meio de fixação de animais em tempos variáveis após a sua alimentação. Foram usados apenas os exemplares que se saciaram completamente em cobáias e que voluntariamente, sem perturbação por parte do hospedeiro ou do observador, cessaram a sucção. Êstes indivíduos eram caracterizados pelo abdomem extremamente opado deixando entrever até as membranas intersegmentais; êles defecaram depois de alimentados. Foram usados os quatro fixadores seguintes: álcool 85%, Bouin-Duboscq-Brasil, Susa segundo Heidenhain e

Flemming forte. Para as observações histológicas foram empregadas apenas as glândulas fixadas por Susa, enquanto as peças tratadas pelos outros líquidos serviram para o estudo das secreções. Antes da fixação a extremidade do lábio, onde vem ter a abertura do sistema salivar, foi fechada por um soluto de celofane para evitar uma perda de saliva conseqente às contrações musculares provocadas pelo choque de fixação. Em seguida o líquido de fixação foi injetado no abdomem (injeções látero-ventrais). Depois de 10 minutos foram seccionados o abdomem, entre as 2º e 3º segmentos, e a cabeça. A peça permaneceu no fixador mais 20 minutos, sendo então as glândulas depois de retiradas fixadas definitivamente. A inclusão em parafina foi feita, depois de desidratação, por meio de álcool-benzol. Foram usados exclusivamente exemplares adultos de *Triatoma infestans*.

Das observações em séries surgiram os seguintes resultados: num animal faminto (10-14 dias após a última alimentação) as cavidades de tôdas as três glândulas se apresentam tão cheias de secreções que, vistas de fora, as suas paredes se mostram extremamente distendidas. As células glandulares, quase sem excessão, encontram-se em estado de inatividade (veja abaixo). Nesta fase o animal está pronto para uma picada. Um aspecto diverso é o que representam as glândulas de um exemplar fixado imediatamente após o término da sucção: agora só algumas células aparecem em estado de repouso, a grande maioria delas estando em pleno funcionamento, preparando a secreção, ou conduzindo os líquidos para a cavidade glandular ou ainda, já tendo entrado no estado de regeneração protoplasmática. Quanto maior o tempo do momento da sucção tanto mais células, em repouso ou em regeneração ,podem ser encontradas. Foi possível observar um certo rítmo na seqüência dessas fases. Cinco (5) minutos depois de sugar só um pequeno grupo de células tinha entrado no estado de regeneração. Estas estão situadas imediatamente em redor da válvula glandular atingindo até às células peritoneais da válvula (fig. 37 RZ). Tôdas as outras células ainda se encontram em plena atividade. Depois de meia hora o número de células em regeneração é consideràvelmente maior, mas tôdas elas com a mesma localização, próximo do polo apical das glândulas. Após 12-14 horas só a parte posterior encontra-se em forte atividade secretorial. Nos dias seguintes o número de células em secreção diminui: no primeiro mais ràpidamente, depois mais devagar, até que ao fim de 10-14 dias quase tôdas já passaram pelo estado de regeneração, chegando à fase de repouso. Êste rítmo foi observado para as três glândulas, tanto na parte histológica como na seqüência dos fenômenos celulares.

Sendo o processo secretorial, em seu todo (formação de presecreções e de secreções, transporte de substâncias, expulsão dos líquidos produzidos e regeneração das células) uma operação contínua, em cada uma das três glândulas, podem ser verificadas fases típicas, características para cada uma das etapas das atividades do núcleo e do corpo celular. Na verdade as três glândulas diferenciam-se fundamentalmente quanto às forma e função das células mas, tôdas elas possuem algumas características comuns. Em cada glândula encontra-se uma forma particular de células; não existem aqui várias formas celulares numa mesma glândula, como foi descrito, por exemplo, por Weber para *Aphis fabae*. Logo todo o aparelho salivar é composto sòmente de três espécies de células secretoras. Tôdas as células das três

glândulas possuem dois núcleos de mesmo valor, isto é, trabalham num mesmo ritmo durante a secreção. A localização dos núcleos, dentro da célula, não segue uma regra fixa mas, em geral, são encontrados na mesma altura do protoplasma. A presença dos dois núcleos representa um exemplo de um acréscimo da massa nuclear em relação à quantidade de citoplasma. Êste aumento, sem dúvida, está vinculado à proporção entre protoplasma e núcleo. Algumas vêzes já foi chamada a atenção para êste fato em células glandulares de grande atividade (com uma intensa produção de líquidos) nos insetos. Quanto à correlação citada trata-se da manutenção de um certo equilíbrio entre tamanho do núcleo, de um lado, e quantidade de protoplasma e atividade do mesmo, de outro. Células glandulares fortemente ativas, com um grande corpo protoplasmático, precisam, para apressar e regular a regeneração celular, depois da secreção, de um núcleo grande com uma superfície relativamente extensa. Provàvelmente o protoplasma necessita de substâncias (ácidos nucléicos) do núcleo para a restauração da sua capacidade secretora. Por êste motivo encontram-se em glândulas, especialmente nas salivares, núcleos volumosos. Em geral trata-se de uma poliploidia acentuada. Correspondendo à forma da célula, muitas vêzes, os núcleos são estreitos, achatados, alongados ou ramificados a fim de fornecer o mais ràpidamente no início da regeneração, as substâncias nucleares necessárias à todo o protoplasma. Além de nos insetos encontramos o mesmo fato nos grandes macronúcleos polimorfos de muitos Ciliados, como por exemplo, nas centenas de núcleos vegetativos de *Opalina ranarum*. Em certos casos existem, em lugar de núcleos ramificados ou compridos, dois ou numerosos numa célula como, por exemplo, os dois núcleos das células das paredes foliculares dos ovaríolos de *Homópteros* e, finalmente nestas glândulas salivares dos *Triatomíneos*. Provàvelmente trata-se, em todos êstes casos, de segmentos isolados de um único núcleo, grandemente desenvolvidos.

Uma outra característica comum a tôdas as três glândulas é a capa peritoneal constando de uma membrana protoplasmática unicelular, pouco espessa na qual são encontrados pequenos núcleos isolados e achatados com uma cromatina densa (PK). Incluídos em pequenos espessamentos da camada peritoneal das glândulas estão os fascículos musculares. Êles constam, normalmente, de apenas poucas fibras musculares; podendo também encontrar-se, especialmente sôbre a D 1, fibras isoladas (figs. 23 e 32). Além disto existem muitas traquéias na membrana, terminando por traqueólas. Na D 1 as extremidades das traquéias entram nas células glandulares; nas D 2 e D 3 tal fato não pôde ser constatado. Nos cortes observam-se ramos nervosos finos, isolados, que pertencem ao *nervus glandulae salivaris*. A ramificação do citado nervo pode ser demonstrada em preparações totais da parede da glândula, depois de coradas pela hematoxilina.

Os limites celulares permanecem bem visíveis em tôdas as três glândulas e, durante tôdas as fases da secreção. A nitidez declina um pouco no estado de repouso.

Mais adiante serão apresentados os aspectos mais típicos das seqüências das principais fases secretoriais. Chama-se a atenção para o fato de que êstes estágios que se sucedem harmônicamente, formam em seu todo um conjunto que é o processo da secreção.

As células glandulares da D 1

Em comparação com as células glandulares das D 2 e D 3 as da D1, em tôdas as suas fases são relativamente as mais volumosas; mesmo na fase de repouso a altura das células desta excede o diâmetro do núcleo em duas vêzes. Na fig. 38 é representada, em corte transversal, uma célula glandular de um animal que não foi alimentado há 19 dias. O protoplasma é muito denso e fortemente corado, incluindo um grande número de granulações muito finas e formando numerosos vacúolos muito pequenos, encontrados em tôdas as partes da célula. Pode-se supor que êstes vacúolos já representem a pré-secreção e que, provàvelmente, as granulações sejam a sua matéria prima a qual vai se liquefazer ao iniciar-se o processo da secreção, durante a picada. Neste estado de repouso não há, aparentemente, nenhum transporte de líquido, de maior importância, da cavidade do corpo para a célula glandular pois, o ergastoplasma na zona basal da célula é muito denso e não apresenta quaisquer fendas ou dilatações. A designação estado de repouso não é muito correta pois a célula, continua ainda em atividade formando, nesta fase, a pré-secreção ou então o material que originará a mesma, devendo aquela estar em condições adequadas para secretar, sem grande demora, uma quantidade de líquido suficiente grande por ocasião da picada. Em relação ao desenrolar de tôdas as funções da glândula, pode-se, contudo, usar a denominação estado de repouso.

Todo o protoplasma é atravessado por traquéolas cujas ramificações são visíveis (fig. 39) dentro de uma célula-mãe de traquéolas, localizada na camada peritoneal. O bordo apical da célula é formado por uma zona marginal constando de fios protoplasmáticos paralelos e é chamado rabdório. Nesta fase os dois núcleos da célula estão consideràvelmente aumentados. A basicromatina é, relativamente, muito densa e compacta, está acumulada no centro formando uma grande massa irregular sustentada por numerosos fios de linina que têm uma fraca afinidade para os corantes. Encontram-se no interior desta massa central alguns nucléolos muito grandes, os quais possuem uma grande afinidade para os corantes ácidos (Kernechtrot, Cromotrop 2 R, Eosinas) de modo que êles, depois de uma coloração por *Hematoxilina* e *Cromotrop*, se destacam, por uma cor vermelha intensa, da cromatina, negro-azulada. O índice dos núcleos ovais foi medido de maneira direta (=média dos dois diâmetros) sendo de 14,5 micra. A secreção no interior da cavidade da glândula é densa e formada por granulações muito finas.

Numa D 1 de um animal fixado 5 minutos depois de terminada a refeição, encontram-se todos os estados intermediários entre o de repouso, descrito acima, e a fase de plena secreção ou até a do comêço da regeneração. Denominando a fase de repouso com estado 1, o estado 2 será representado por uma célula (fig. 39) com o protoplasma em plena atividade assim caracterizada: ela aumentou até atingir o dôbro da altura inicial, o que quer dizer que a sua altura corresponde agora a 4-5 diâmetros nucleares. Com isto a célula se arqueia para dentro da cavidade glandular pois sòmente o bordo apical participa dêste aumento. Como se pode verificar nos estados

seguintes (fig. 40 e 41) o limite celular pouco aumenta lateralmente, enquanto que o bordo apical com o rabdório se dilata consideràvelmente. Durante esta dilatação os fios do rabdório afastam-se inicialmente pouco, mas depois (fig. 40), fortemente. Neste estado 2 o protoplasma possui além dos ainda numerosos grânulos, muitos vacúolos e fendas pequenas sendo estas muito maiores que no estado de repouso.

A estrutura do protoplasma em geral é mais esponjosa. No ergastoplasma os feixes de filamentos afastam-se entre si mais e mais formando fendas longitudinais compridas; o seu limite apical é pouco nítido de modo que os filamentos aparecem prolongados para cima. Entretanto, êstes prolongamentos representam a continuação do ergastoplasma, ligando-se apicalmente com os filamentos do protoplasma que, especialmente perto do núcleo, começa a se orientar verticalmente. Nesta formação trata-se, provàvelmente, de um processo exclusivamente mecânico condicionado por uma entrada de bastante líquido para o interior da célula. Também o ergastoplasma esponjoso leva à supor que o movimento de líquidos através desta zona é grande. Assim, a célula é obrigada a crescer verticalmente pois, as vizinhas, impedem um aumento horizontal. Correspondendo ao crescimento vertical os fios protoplasmáticos estendem-se no sentido do movimento das substâncias. Êstes fios, provàvelmente, também já existem na primeira fase mas, sem qualquer orientação paralela. Esta presunção é confirmada pela presença das primeiras gôtas pequenas de secreção que saem da célula pelo rabdório (figs. 39 e 42). Esta secreção súbita, de tipo apócrino, fornece apenas pequena quantidade de líquido à cavidade da glândula; a sua importância fisiológica não é grande. Ela porém, indica que, pelo aumento rápido do volume condicionado pela entrada do líquido na célula surgiu uma pressão elevada e que provoca a secreção apócrina. Depois de secretada a gôta, o rabdório se fecha novamente. Não foi possível provar cabalmente se os fios do rabdório são liquefeitos e depois novamente regenerados no momento da gotícula ou, se êles são deslocados para os lados para depois, novamente, voltarem à sua posição normal. O núcleo aumenta o seu volume, e o seu índice é de cêrca de 18-19 micra. A cromatina é menos densa e as suas partículas cresceram visìvelmente. Os nucléolos, entretanto, não mostram nenhuma modificação.

O aspecto típico, posterior à fase 2, é representado na fig. 40 como sendo a fase 3. O bordo apical aumentou ainda mais formando, com os das células vizinhas, reentrâncias profundas em direção à base das células (fig. 40, RE). Tôdas as modificações descritas na fase precedente aqui estão, mais acentuadas no que diz respeito, especialmente, à estrutura fibrilar do protoplasma que, agora, percorre a célula até o polo apical formando fios ondulados; inclui também vacúolos e fendas muito amplas, que têm um diâmetro maior na parte apical do que na parte central da célula, ponto onde são mais numerosas. O número das granulações diminui mais e mais. Não foi possível coagular a secreção dentro das células empregando-se qualquer dos métodos comuns de fixação. Sendo porém bem fixável a secreção do interior da cavidade da glândula, temos que supor que, quanto aos produtos de origem glandular, do interior dos vacúolos, se trate de uma presecreção que, ao sair do corpo celular venha a sofrer mais uma modificação dando então a secreção definitiva. Na fig. 44 é apresentada uma célula fixada, segundo

Champy, por OsO_4: os fios protoplasmáticos são visíveis, entre êles encontrando-se a presecreção homogênea de grânulos finos. Trata-se de um estado intermediário entre as fases 1 e 2.

No estado 2 encontra-se, basalmente aos dois núcleos, um acúmulo de mitocôndrios redondos ou fracamente ovais, também presentes em número reduzido na fase 3. Êstes corpúsculos sempre são circundados por uma área anular estreita. Os seus diâmetros na fase 2 medem de 3 a 2,3 micra; na fase 3 diminuem o tamanho para 1 a 1,5 micra. A área anular, em todos os casos, mantém a mesma largura de 0,8 a 1 micra. Estando ausentes, no estado 4, os mitocôndrios e, também não sendo encontrados vacúolos no lugar dos mesmos, pode-se supor que êles foram transformados em secreções.

Na fase 3, também há uma secreção apócrina (não representada na fig. 40; veja fig. 42). O núcleo aumenta mais e mais o seu volume tornando-se então, aparentemente, mais frouxo. Muitas vêzes os núcleos também aparecem aumentados. O índice do núcleo é de 22,4 micra.

A 4ª e última fase, durante a qual é preparada a secreção definitiva, (fig. 41), é representada por uma célula com uma altura 6 a 7 vêzes maior que a da fase 1. O bordo apical, muito recurvado, desce lateralmente, sempre caracterizado pela presença do rabdório. Na metade basal da célula o protoplasma é orientado em fios curvos, e mais ou menos paralelos; possui ainda numerosas granulações e inclui muitos vacúolos e fendas que aumentam ràpidamente o seu diâmetro acima dos núcleos formando, depois, na parte apical da célula, grandes vacúolos por fusão dos menores. O desenvolvimento dos vacúolos está representado nas figs. 45 a — d. Ao lado direito da fig. 45 a está desenhado um esquema para indicar os níveis em que foram feitos os 4 cortes transversais de uma mesma célula. Na fig. 45 d observam-se, perto da base da célula, vacúolos muito pequenos. Próximo ao núcleo êles se tornam mais nítidos (c); na fig. 45 b, acima do núcleo êles se fundem ràpidamente para formar grandes lacunas (fig. 45 a) que se adaptam umas às outras. A secreção apócrina, nesta fase, diminui de modo que podem ser encontradas sòmente poucas das pequenas gôtas. Os núcleos pouco aumentam e o seu índice varia entre 22,5 e 23 micra. No fim desta quarta e última fase a célula aumenta no sentido transversal mas, sòmente na parte apical, acima do núcleo. Observa-se uma concentração perto da extremidade apical da célula e, um pouco acima do núcleo, um estrangulamento que avançando mais e mais termina por eliminar a parte superior da célula (fig. 43, estado 5). Esta se torna esférica enquanto que o rabdório se regenera novamente no ponto do estrangulamento. Alguns vacúolos, que permaneceram no resto da célula, ainda deixam sair, posteriormente por processo apócrino, algumas gôtas de secreção (fig. 43). A esfera, eliminada por processo merócrino, é formada por alguns grandes vacúolos de secreção e restos de protoplasma, sendo êste último, depois de pouco tempo, transformado também em secreção. Na fig. 43 já aparecem, na parte superior, alguns pontos de saída da secreção; mais tarde tôda a esfera se dissolve. Neste momento a presecreção já iniciou a sua transformação pois, ao começar a dissolução da esfera, a secreção pode ser fixada pelos fixadores comuns (álcool, Bouin II, Susa e outros), apresentando-se como fortes granulações.

Durante o processo de solta à merócrina da esfera, os núcleos, bem cheios, alteram repentinamente sua forma que, até então, era mais ou menos elipsóide. Perdem instantâneamente uma grande quantidade de líquido o que pode ser comprovado pela brusca diminuição de seu tamanho (diâmetro médio) de 23 micra para 14,5 micra; ao mesmo tempo os contôrnos tornam-se irregulares. O início da deformação é representado na fig. 41. O aspecto dos núcleos desta fase indica uma grande perda de substância pois parecem estar encarquilhados como, por exemplo, depois de uma fixação incompleta; mas não se nota uma separação entre núcleo e protoplasma. Parte da cromatina não sai dos núcleos durante estas alterações. Trata-se, sem dúvida, exclusivamente de uma saída de substâncias líquidas, pois a massa cromática permanece no núcleo de modo que êle agora apresenta um aspecto mais compacto do que na primeira fase.

O resto da célula, na sexta fase, condensa ràpidamente o seu protoplasma, os filamentos tornam-se mais indistintos e a altura da célula volta logo à do estado de repouso. Compare o esquema na fig. 46 a.

As células glandulares da D 2

As células da D 2 obedecem ao mesmo rítmo de secreção que o descrita para D 1. 19 dias depois da última alimentação tôdas as células, com apenas poucas exceções, encontram-se na fase de repouso (estado 1 nas figs. 46 b e 47). A altura da célula mede quase vez e meia o diâmetro do núcleo. Acima dos dois núcleos o protoplasma penetra na cavidade glandular, sob forma de ligeiras saliências. A sua estrutura é sempre muito densa e não possui nenhum vacúolo mas, dá um aspecto homogêneo e finamente granulado. A zona basal de ergastoplasma é pouco acentuada. Os fios do rabdório estão dispostos enfixados. Tôda a zona limiar é nìtidamente diferenciada por protoplasma. Os núcleos representam um tipo disciforme de modo que, no corte vertical da célula, desenhada na fig. 47, êles aparecem achatados. Considerando a grande massa cromática concentrada, os núcleos, como os da D 1, são polienérgides. Encontram-se 3 a 5 nucléolos sendo sempre suspensos no lumen do núcleo por meio das estruturas de cromatina e incluídos por numerosas partículas cromáticas como foi observado, também, nas células da primeira glândula. Os limites celulares são nítidos.

Com a entrada na fase ativa (estado 2 nas figs. 46 b e 48) a altura das células pouco aumenta em comparação com as células da glândula precedente. Em cima da zona ergastoplasmática, agora mais acentuada, o protoplsma começa a formar os vacúolos. Êstes, na parte central da célula, são muito pequenos mas, caminhando-se em direção a zona apical vão aumentando, e finalmente, acima dos núcleos, reunem-se e formam uma única lacuna muito extensa. O bordo apical da lacuna é representado pelo rabdório. Êste, nesta fase, é atravessado, numa freqüência variável, por pequenas gôtas de secreção verificando-se, assim, uma súbita secreção apócrina. Os núcleos neste estado não se dilataram no sentido horizontal mas, cresceram muito no sentido vertical. A sua cromatina não foi aumentada e dá um aspecto frouxo.

Com a continuição da elaboração das secreções o bordo apical das células cresce muito (estado 3 nas figs. 46 b e 49), com isto, dilatando fortemente o bordo limiar de modo que, os fios do rabdório, agora isolados, tornam-se mais nítidos e visíveis. O protoplasma possui numerosos, mas sempre pequenos, vacúolos que agora se juntam acima dos núcleos para formar uma grande lacuna que enche todo o espaço da expansão hemisférica do bordo apical da célula. Neste reservatório de secreção se lançam apenas poucos filamentos protoplasmáticos. Abaixo do bordo limiar existe uma camada fina de protoplasma. A zona de ergastoplasma é nítida e dela nascem alguns fios protoplasmáticos curvos que penetram na célula. O núcleo aumenta agora no sentido horizontal e também nota-se um crescimento no sentido vertical. As suas partículas cromáticas afastam-se ainda mais. Nesta fase uma secreção apócrina só raras vêzes é encontrada.

Com isto termina a elaboração de secreções e a célula entra na última fase (estado 4 nas figs. 46 b e 50). Nesta tôda a secreção é esgotada sob a forma de explosão para tanto o bordo apical estoura, deixando entrar a secreção no lumem da glândula. Êste método de secreção pode ser considerado como sendo do tipo apócrino pois nenhuma parte protoplasmática é expulsa, ou também poderá ser encarado como sendo uma forma intermediária entre apócrina e merócrina : para caracterizar bem êste fato, êste modo de secretar é chamado apomerócrino. Nesta fase o protoplasma já não tem mais vacúolos. O bordo basal da lacuna esgotada se regenera (fig. 50). O ergastoplasma está reduzido formando apenas uma zona basal estreita. Os últimos restos de presecreções ainda saem do citoplasma antes que a parte destruída do rabdório se feche e a célula volte novamente à fase de repouso (estado 5 na fig. 56 b). No momento da abertura da lacuna uma grande quantidade de substâncias líquidas é expelida do núcleo. O contôrno nuclear torna-se irregular e as partículas de cromatina aproximam-se mais e mais; provàvelmente saem do núcleo nesta fase as substâncias nucleares líquidas que são necessárias para a regeneração do protoplasma a fim de preparar uma nova quantidade de secreção.

Aparentemente a secreção ainda permanece ,durante um certo tempo, no lumem da glândula sob a forma de presecreção pois, no transcurso dos primeiros estados de regeneração protoplasmática, podem-se observar estas figuras típicas de expulsão (fig. 50) por sôbre as células plandulares esgotadas. Estas figuras se enchem vagarosamente, de granulações e, finalmente, dão o mesmo aspecto que a massa de secreções. É interessante chamar a atenção para uma zona de secreção, fortemente condensada, encontrada tanto na D 1 como também aqui na D 2, situada sempre imediatamente por cima do bordo limiar das células, mais escassamente sôbre as células em regeneração e, mais acentuadamente, sôbre as células em crescimento das fases 2 e 3. Provavelmente, a presecreção, saindo da célula, e a secreção definitiva, depositada na cavidade da glândula, representam a mesma substância química mas, a da cavidade glandular é fortemente concentrada enquanto que a que sai da célula está muito diluída. Durante a formação das secreções nos estados 2 e 3 a células necessita de uma grande quantidade de água para tornar possível a liquefação das presecreções. Êste líquido penetra, tanto na área basal, carregado de substâncias nutritivas provenientes da

cavidade geral do corpo, como também, na área apical da cavidade glandular. Com isto, a cavidade glandular não se enche evitando-se assim uma interrupção na secreção e, também a célula recebe água suficiente para a dissolução das presecreções. Esta zona na qual se concentram as secreções pode ser demonstrada na D 2 por meio de corantes alcalinos, na D 1 por corantes ácidos.

Em nenhum estado das células da D 2 foram encontrados mitocôndrios ou outras diferenciações do protoplasma.

As células glandulares da D 3

Um aspecto fundamentalmente diferente é apresentado pela histologia das células da D 3. No estado de repouso (estado 1 nas figs. 46 e 51), um exemplar que passou 19 dias sem se alimentar, tem o corpo protoplasmático muito baixo não atingindo nem à metade da altura dos dois núcleos, de modo que, a célula aparece salientada nas regiões dos núcleos. O protoplasma é muito denso, sem vacúolos. Os limites celulares são bem nítidos. Os dois núcleos, com uma cromatina muito densa e numerosos nucléolos, de situação central, têm uma forma extremamente achatada, representando discos largos. Falta o rabdário, entretanto, o bordo apical não está nitidamente delimitado e dá então um aspecto difuso, o que leva à conclusão de que se deva tratar aqui de um bordo limiar muito fino.

Na segunda fase (fgis. 46 e e 52) o corpo plasmático da célula aumenta ràpidamente chegando à uma altura 2 ou 3 vêzes maior que a do estado de repouso. O protoplasma não possui vacúolos perfeitos mas sim, apenas, fendas maiores e menores situadas entre os fios protoplasmáticos verticais. Os núcleos aumentam muito o seu diâmetro, tanto no sentido horizontal quanto no vertical. A cromatina é mais frouxa e os 5-8 nucléolos, escondidos na primeira fase pela cromatina densa, tornam-se visíveis. Também nos núcleos pode-se observar, nitidamente, que os nucléolos estão suspensos na estrutura cromática (fig. 53).

Concomitantemente à formação das secreções, a célula ainda cresce mais, em sentido vertical, atingindo até ao dôbro da sua altura mantendo, entretanto, a mesma largura (estado 3 nas figs. 46 c e 53). O protoplasma apresenta filamentos verticais nitidamente visíveis e, possui algumas granulações fortes aderidas aos fios. Êstes incluem fendas grandes que, depois de fixação comum, aparecem vazias; sòmente depois de tratamento pelo OsO_4 e sublimado torna-se visível uma granulação fina na cavidade das fendas. Sòmente no fim desta fase é que se verifica a secreção (figs. 46 c e 53). Durante êste processo a célula se contrai, diminui ràpidamente de altura, voltando, assim, ao estado inicial. Quando da saída da secreção também os núcleos diminuem, de modo idêntico ao que foi descrito para os núcleos da D 2, no mesmo estado (fig. 54, KE).

A secreção do interior da cavidade glandular pode ser fixada por meio de OsO_4 sob a forma de uma trama frouxa de fios carregados de granulações menores e maiores. Tratando-se pelo álcool, em todos os casos, a secreção é dissolvida de maneira que a cavidade glandular apesar de dilatada se apresenta vazia.

OBSERVAÇÕES FISIOLÓGICAS

Foram feitas observações sôbre a natureza das secreções, na medida do necessário, para permitir a explicação da função das glândulas salivares. O líquido salivar ao sair, no momento da picada, pelo canal de injeção das maxilas, representa uma mistura de pelo menos três componentes. Tanto as células das três glândulas, como as três secreções, diferem entre si. Durante a picada a saliva é aspirada das cavidades glandulares, por meio do movimento da bomba salivar e, expulsa por contrações dos músculos responsáveis. As secreções das D 1 e D 2 se misturam na primeira fenda do hilo (SP_1 nas figs. 4 e 9) e saem daí, através do canal de ligação, penetrando naquela cavidade (CA na fig. 9) na qual também desemboca o canal secundário da D 3. Dêsse modo as secreções são misturadas numa seqüência determinada, regulada pela construção do hilo, formando-se ,assim, a saliva definitiva.

A fim de examinar as propriedades das secreções as glândulas foram separadas em soluto isotônico (0,7% KCl e 3% NaCl em água destilada). Logo de início se nota uma diferença entre as colorações naturais das três glândulas : D 1 é amarelada e fortemente opaca; a sua côr é produzida pela secreção que contém. Existe uma nítida diferença quanto à intensidade da côr : num animal que acaba de sugar, a secreção é amarelo-clara; num animal faminto, ao contrário, a côr é muito mais intensa. A D 2 sempre é incolor mas, um pouco opaca. A D 3 é transparente e também sem qualquer coloração. Enquanto que as D 2 e D 3 permanecem bem cheias em todos os estados, o volume da D 1 durante o período de fome diminui progressivamente de modo que ao fim de um certo tempo, não tem mais a sua parede esticada como depois da picada; ela dá a impressão de que a secreção está concentrada na cavidade glandular em conseqüência da desidratação. Perfurando-se a mesma, dentro de líquido isotônico, com um alfinete, quando ela provém de um animal que acabou de se alimentar, o seu conteúdo se escoa relativamente depressa, formando uma emissão que prontamente se dissolve no líquido. Ao contrário, depois de se perfurar a parede da D 1, obtida de um animal faminto, a secreção sai apenas se exercermos uma ligeira pressão sôbre a parede glandular. Neste caso, o líquido emitido é mais viscoso e mais visível que no primeiro exemplo e, se dissolve devagar. Êstes fatos não podem ser observados nos D 2 e D 3.

Depois do tratamento pelo Os O_4 (0,9% em ácido crômico) a D 1 se torna ligeiramente castanha, sendo esta coloração devida à fixação das células; a secreção não muda a sua coloração. A D 2, no início da fixação, torna-se cinzento-clara mas, durante a penetração vagarosa do ácido, a secreção escurece mais e mais até chegar a uma coloração negra (ao fim de 24 horas). Depois da fixação a secreção da D 3 tem uma coloração ligeiramente amarelo-clara, mas a glândula inteira mantém a sua transparência enquanto que as D 1 e D 2 se tornam completamente opacas. Ao abrir glândulas fixadas desta maneira nota-se que as secreções de D 1 e D 2 estão completamente coaguladas ao passo que a da D 3 permanece líquida ou pelo menos, não deixa observar, macroscòpicamente qualquer coagulação.

Sendo sabido que a afinidade para certos corantes não tem grande significação relativamente às propriedades das secreções, empregaram-se con-

tudo, várias substâncias na realização de algumas provas, com o fim de se obterem esclarecimentos ôbre a natureza dos líquidos emitidos e que deram os seguintes resultados : a secreção da D 1 se tinge por colorações supravitais com : vermelho neutro, sulfato de azul do Nilo, verde de Janus, azul de anilina e azul de metileno; a da D 2 com : purpurina, orange, fucsina e cromotrop. A secreção da D 3 muito fraca com azul de anilina. As colorações vitais realizadas por meio de injeção de vermelho neutro, sulfato de azul do Nilo e verde de Janus foram positivas exclusivamente para a secreção da D 1. Uma coloração supravital pelo Sudan III impregnou pouco a D 2 e D3.

Os cortes corados com «Azan» de HEIDENHAIN apresentam uma tonalidade azul intensa na D 1, vermelho forte na D 2, e incolor na D 3. O azul de metilo — orange cora a secreção da D 1 em azul, a da D 2 em orange, e a da D 3 não se cora. Se empregarmos o cromotrop 2R para contraste obteremos uma coloração vermelha em tôdas as três peças. A coloração contraste feita com purpurina apresenta a secreção da D 2 em côr vermelha; uma dita com verde de naftol, a da D 1 em côr verde.

É interessante observar os efeitos dos fixadores: pelo álcool absoluto as secreções das D 1 e D 2 são coaguladas; observa-se que a da D 1 com formação de granulações pequenas e a da D 2 com maiores; a da D 3 não é fixada. Esta glândula, bem como as numerosas fendas do interior do protoplasma das suas células ativas, aparecem completamente vazias. Ao contrário, o protoplasma das células das D 1 e D 2 se apresenta densamente granulado e possui os vacúolos cheios. Uma fixação por BOUIN II (modificação alcoólica) coagula as secreções da D 1 e D 2 muito densamente (na D 1 com granulações mais finas, na D 2 com elas mais grossas), enquanto que na D 3 não tem ação. Líquidos, contendo sublimado, fixam da mesma maneira, entretanto, a secreção da D 3 é coagulada por SUSA (segundo HEIDENHAIN) apresentando poucos fios finos e reticulados com uma granulação muito fina. A secreção da D 3 também é bem fixada por fixadores com OsO_4 (FLEMING, CHAMPY, CIACCIO) formando-se apenas fios delicados com granulações muito finas. Mas, por esta fixação, são conservados apenas poucos restos da secreção da D 3, sendo a maior parte dissolvida. Na D 1 encontram-se, após fixação com OsO_4, sòmente alguns vestígios da secreção em animais que acabaram de sugar recentemente, enquanto que em animais famintos ela aparece completamente vazia. Trata-se, provàvelmente, de restos de protoplasma que entraram, pela secreção merócrina durante ou imediatamente depois da sucção, na cavidade glandular e que ainda não foram transformados em secreções. Na cavidade da D 2, depois da fixação por OsO_4, aparece uma massa densa de secreção com granulações espêssas.

Das observações sôbre as secreções fixadas e coradas conclui-se que os três componentes, D 1, D 2 e D 3, do complexo glandular, diferem tanto anatômica como histológica e fisiològicamente. Ficou demonstrado que as D 1 e D 2 produzem substâncias albuminoides das quais a da D 1 é caracterizada como sendo *ragiócrina-cianófila*, a da D 2 como *ragiócrina-eritrófila*. Conclui-se, comparando com as espécie por exemplo *Notonecta, Naucoris, Lethocercus, Aphis* e outras) descritas por vários autores (FAURÉ-FREMIET, ZWEIGELT, WEBER e outros), que as D 1 e D 2 correspondem às subdivisões

da «glândula principal» (como em *Notonecta glauca*). Em *Triatoma infestans* a D 3 produz uma secreção fortemente aquosa contendo poucas substâncias lipóides.

Para se examinar o modo de reação das secreções foi observado o efeito das diversas secreções isoladas sôbre o sangue de cobaias. Por meio de micropipetas, empregando-se um micromanipulador, foram aspirados os líquidos das glândulas e imediatamente adicionado o dobro ou triplo do seu volume de sangue fresco de cobaia (dissolvido na proporção de 1:3 em soluto fisiológico). Depois o efeito produzido sôbre o sangue foi observado ao microscópio. Ao mesmo tempo se extirparam algumas glândulas e que foram esmagadas em sangue fresco de cobaia, na mesma diluição. Foi observado que a secreção da D 1, em cada caso, evita, totalmente, qualquer coagulação do sangue, enquanto que as das D 2 e D 3 não impedem e nem retardam a mesma. Empregando-se um sangue desfibrinado foi observado o efeito hemolítico : as secreções das D 1 e D 3 não apresentam êste efeito, a da D 2 hemolisa ràpidamente. Entretanto, a secreção da D 1 destrói, dentro de 24 horas, (com 25º-27º) a hemoglobina completamente que fôr posta em liberdade pela ação da D 2. Ficou demonstrado também que êste efeito não é realizado pelas duas outras glândulas.

O fato da secreção da D 1 ser anticoagulante desempenha um papel importante nos hematófagos: êste fator evita um entupimento do canal de sucção, mesmo sendo o seu diâmetro bastante grande. A secreção da D 2 é hemolítica, podendo a digestão do sangue se começar antes ou durante a entrada do sangue no canal de sucção. Aliás, esta propriedade hemolítica pode eliminar alguma obstrução que eventualmente possa ocorrer nos condutos de sucção. Entretanto, não foi confirmada uma destruição completa dos eritrócitos pela saliva, pois, muitos dias depois da sucção, a maior parte das hemátias ainda é encontrada em perfeito estado dentro do proventrículo. O efeito destruidor da secreção da D 1 sôbre a hemoglobina é mais um exemplo de digestão extraintestinal, e que se pode comparar com a atividade da saliva dos mamíferos.

Estando ausentes um fator anticoagulante como também um hemolisante no líquido eliminado pela D 3, pode-se considerar o mesmo como sendo um veículo para as duas outras secreções, o que pode ser provado pelo seguinte: A secreção da D 3, compara com das D 1 e D 2, sempre existe em maior quantidade. As substâncias orgânicas dissolvidas na mesma são quantitativamente pequenas. Elas são de natureza oleosas e, assim têm a propriedade de emulsionar as duas outras substâncias elimanadas pelas D 1 e D 2. Além disso, não há qualquer concentração na secreção, como as descritas para D 1 e D 2, pois em todos os estados o teor das substâncias orgânicas permanece invariável. De acôrdo com êstes fatos temos que concluir o seguinte : as secreções concentradas das D 1 e D 2 saem das cavidades glandulares; misturam-se na primeira fenda do hilo e entram naquela cavidade onde vem ter o canal secundário da D 3 (A na fig. 9). Neste ponto tem lugar a mistura com a secreção da D 3 que entra em maior quantidade na cavidade CA pois, o lumem do canal secundário, é muito maior que o do canal que liga a primeira fenda com CA. As secreções das D 1 e D 2, reunidas até ao presente bem concentradas, são diluídas numa proporção certa e constante e, talvez, haja

um emulsionamento das mesmas pelas substâncias oleosas originadas da D 3, podendo agora a saliva, já com a sua forma definitiva ser expirada pela bomba salivar. A composição da mistura está na dependência direta do grau de contração dos músculos das glândulas e da abertura das válvulas estelares como, também, do diâmetro da luz dos canais condutores.

Não foi possível verificar qual das três secreções provoca o efeito hiperêmico. Êste efeito, observado em *Triatomíneos* é, entretanto, muito mais fraco, que em cimexídeos e nas formas predadoras.

RESUMO

Foram descritas anatômica e histològicamente as glândulas labiais modificadas que são um par de complexos glandulares, cada um composto de três glândulas. Cada glândula tem uma parede formada por uma camada unicelular limitando uma cavidade relativamente grande, o reservatório. As duas primeiras glândulas (D 1 e D 2) encontram-se justapostas uma à outra. Entre elas é formado um hilo que tem um canal auxiliar que o liga à terceira glândula (D 3), situada mais para trás. Pelo hilo as três secreções das glândulas são automàticamente misturadas, sempre na mesma proporção, de modo que a composição da saliva só varia dentro de pequenos limites.

Tôdas as glândulas são recobertas por uma musculatura e possuem válvulas que se abrem por meio dos músculos. O nervo (*nervus glandulae salivaris, alias labialis*) sai da parte posterior do *gânglio subesofagiano* (*segmento labial do cérebro*) encosta-se no canal salivar principal (entre hilo e bomba salivar) e emite ramos para as três glândulas.

A parte ectodermal do aparelho salivar termina no centro das válvulas das três glândulas. Os canais do hilo são revestidos por uma cutícula.

As células de tôdas as três glândulas são binucleadas.

Cada glândula apresenta um tipo de secreção característico. Animais famintos possuem quase exclusivamente glândulas no estado de regeneração, ou melhor em repouso. A expulsão da secreção das células para o interior da cavidade glandular realiza-se durante ou imediatamente depois da picada. Com isto, a quantidade de saliva gasta pela picada, vai ser substituída. Ficou provada uma correlação entre núcleo e protoplasma durante e, depois da secreção. Foi confirmada a opinião de HEIDENHAIN de que a formação das secreções representa uma função autônoma do protoplasma enquanto que a regeneração do mesmo realiza-se por intermédio de substâncias líquidas expulsas do núcleo para dentro do protoplasma no momento da saída das secreções. Estas substâncias são formadas novamente dentro do núcleo na fase de formação das secreções.

A secreção principal da D 1 é merócrina, a da D 2 apomerócrina e a da D 3 apócrina. Nas D 1 e D 2 realiza-se, antes da secreção principal, ainda uma secreção apócrina quantitativamente pequena.

As secreções das D 1 e D 2 após a expulsão são condensadas na cavidade glandular por meio de um refluxo de água para o interior das células glandulares.

Durante a picada as duas secreções concentradas das D 1 e D 2 são misturadas com a secreção aquosa da D 3, dentro do hilo; talvez se forma uma emulsão de modo que a secreção da D 3, fracamente lipóide, represente um veículo.

A secreção da D 1 é *ragiócrina-cianófila*, a da D 2 *ragiócrina-eritrófila* e a da *D 3 lipócrina*.

A secreção da D 1 é anticoagulante e destroi a hemoglobina; a da D 2 é hemolítica. O fator hiperêmico fraco não foi localizado.

BIBLIOGRAFIA

Veja no fim do texto em alemão.

ÍNDICES NAS FIGURAS

I — III	1.° à 3.° segmento do tórax
AZ	Células glandulares com secreção tipo apócrina
BM	Membrana basal
CA	Cabeça
CH	Anel quitinoso
CN	Côndilo
CR	Vaso dorsal
CV	Cavidade inicial do hilo
CW	Parede de quitina
DK	Núcleo da célula glandular
DZ	Célula glandular
D 1 — D 3	1.° à 3.° corpo glandular
EP	Ergastoplasma
FO	*Foramen occipitalis*
GG	Canal salivar impar
GR	Grânulos
GT	Gânglio toráxico
GZ	Limite celular
HI	Hilo
HP	Hipofaringe
IN	Intestino
LA	Lábio
ME	Mesêntero
MI	Mitocôndrios
MK	Núcleos dos músculos
MP	Mioplasma
MS	Esfera de secreção merócrina
MU	Músculos
MU_1	*Musculus retractor maxillae*
MU_2	*Musculus retractor mandibulae*
MUR_1	Músculo reticulado da primeira glândula salivar
MUR_2	Músculo reticulado da segunda glândula salivar
MUR_3	Músculo reticulado da terceira glândular salivar
MUV	Músculo da primeira válvula estelar
MUV'	Músculo da segunda válvula estelar
MX	Maxila
NE	Nervo
NGL	*Nervus glandulae labialis*
NK	Canal de sucção
NL	*Nervus labialis*
OE	Esôfago
PE	Tecido peritoneal
PL	Protoplasma
PV	Proventrículo
PZ	Células do tecido peritoneal
RE	Reentrância entre duas células em secreção
RH	Rabdório
RZ	Células glandulares em repouso
SB	Gânglio subesofagial
SB_3	Terceiro segmento do gânglio subesofagial
SE	Secreção
Sê et SG'	Canal salivar
SH	Tendão
SK	Canal de sucção
SP	Bomba salivar
SP_1 et SP_2	Primeira e segunda fenda do hilo
SV	Primeira válvula estelar
SZ	Células glandulares em plena secreção merócrina
TH	Traquéola
TK	Núcleo da célula de traquéolas
TO	Tonofibrilas
TR	Traquéia
TR'	Traquéia da cabeça (lado esquerda)
VA	Vacúolo
VE	Válvula
VG	Canal secundário

UEBERSETZUNG

Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie Triatominae (Heteroptera, Reduviidae)

IV. Teil: Der Speicheldruesenkomplex von Triatoma infestans

I — Allgemeine Bemerkungen
II — Anatomie des Druesenkomplexes
III — Histologische Untersuchungen
a) Speichelgaenge und Hilus
b) Die Speicheldruesen
IV — Physiologische Bemerkungen
V — Zusammenfassung, Summary
VI — Literatur
VII — Abkuerzungen in den Abbildungen

ALLGEMEINE BEMERKUNGEN

Waehrend im ersten Teil der Studien ueber die *Triatominae* (Barth 1952) vom Speichelapparat nur diejenigen Teile, die sich im Kopf befinden, beschrieben wurden, bleiben von diesem System nur noch der dreusige Teil und die Haupt-und Nebengaenge, die im Thorax gelegen sind, zu bearbeiten. Der schmale, relativ kleine Kopf mit seinem grossen Saugapparat bietet fuer groessere Organe keinen Raum mehr. Insbesondere waere das Kopflumen aeusserst unguenstig fuer die Unterbringung der Speicheldruesen, da einerseits in den verschiedenen Funktionsstadien die Druesen groesser oder kleiner sind und andererseits die Kopfkapsel nicht gedehnt werden kann. Erst im Thorax findet sich an einer engumgrenzten Stelle genuegend Raum, um ein Organ zu beherbergen, dessen Umfang dauerndem Wechsel unterliegt. Diese Veraenderungen stellen eine physiologische Notwendigkeit dar, die fuer die Ernaehrung des Tiers lebenswichtig ist und fuer deren ungehinderten Ablauf gesorgt sein muss. Dieser den genannten Anspruechen genuegende Raum liegt in Meso- und Metathorax (Fig. 1) seitlich begrenzt von den Flugmuskeln, nach vorne von dem engeren Teil des Prothoraxraumes und der thorakalen Ganglienmasse, nach hinten vom Kropf. Der Oesophagus bleibt

bis zum Uebertritt in den Kropf, sehr duenn; letzterer ist dagegen sehr dehnungsfaehig und fuellt im Falle der Saettigung des Tieres den gesamten Durchmesser der hinteren Thoraxhoehle aus. In diesem beschriebenen Raum liegen seitlich vom Oesophagus drei Druesenpaare. Nicht selten, vielleicht in Abhaengigkeit von Bewegungen des Verdauungstraktes, sind sie aus ihrer normalen Anordnung verlagert, so dass man sie teils ueber, teils unter dem Oesophagus finden kann. Jeder Komplex mit drei Einzeldruesen steht durch einen Hauptkanal (SG) mit der Speichelpumpe im Kopf in Verbindung. Zwischen den beiden ersten Druesen jeder Seite (D 1 und D 2) findet sich ein komplizierter Hilus, aus dem ein duennerer Verbindungsgang (VG) heraustritt, der nach einem Umweg durch den hinteren Teil des Kopfes von der Aussenseite in die hintere Druese (D 3) muendet.

Ueber die Anatomie des Speicheldruesensytems der Heteropteren bestehen zahreiche Arbeiten. Aus ihnen geht eine sehr grosse Variabilitaet des Baues der Druesen bei den verschiedenen Familien hervor; eine Erscheinung, die zweifellos mit der unterschiedlichen Ernaehrungsweise der Heteropteren in Zusammenhang steht (Pflanzen-, Algen- und Pilzsauger, Raeuber und Blutsauger). Die Druesen der phytophagen Formen sind sehr gross und koennen im gefuellten Zustand weit in das Abdomen hineinreichen. Bei den Blutsaugern sind die Druesen weniger umfangreich, auch nicht im gefuellten Zustand. Damit ist die Speichelmenge, die beim Stich der ersteren in das Pflanzengewebe eindringt, wesentlich groesser als die der haematophagen Arten. Anatomisch kommt dieser Unterschied im Durchmesser des Speichelgangs der Maxillen zum Ausdruck, der bei den phytophagen Arten immer um das Mehrfache groesser ist als bei den haematophagen Formen. Bei den Raeubern, die eine relativ grosse Menge von Speichel mit toxischer Wirkung in moeglichst kurzer Zeit in das Beutetier spritzen, finden wir eine Mittelstellung. Ueber die Wirkung des Speichels der Pflanzensauger macht Zweigelt (1914) grundlegende und teilweise sehr ueberzeugende Ausfuehrungen. Eine Parallele zu dieser Arbeit stellt in einigen Teilen fuer die Raeuber die Arbeit von Fauré-Fremiet (1910) dar.

In den anatomischen Beschreibungen wird im allgemeinen sowohl bei Pflanzensaugern wie bei Raeubern nur von zwei Druesenpaaren gesprochen, wovon die hintere Druese in allen Darstellungen einen einheitlichen Bau zeigt, waehrend in der Beschreibungen der vorderen Druese zwei oder drei Teile mit verschiedenen Zellformen unterschieden werden. Einerseits koennen diese Zellformen untereinander vermischt zusammen eine einheitlich Druesenblase bilden oder sie sind von einander getrennt und formen wohl abgesetzte Teile, die oft nur durch duenne, aber kurze Gaenge zusammenhaengen. Als Beispiel seien die «Haupt- und Huellzellen» von *Aphis fabae* (Weber 1928) und die dreiteilige Druese von *Naucoris cimicoides* (Fauré-Fremiet 1910) genannt.

Bei den Blutsaugern sind zwei Druesentypen beschrieben worden: Der Typ von *Cimex* und der von *Triatoma*. Der erstere (siehe die Arbeiten von

Puri, Cornwall und aeltereren Autoren wie Bordas und Landois) setzt sich aus zwei Druesenpaaren zusammen. Waehrend Murray u. a. die hintere Druese als Reservoir fuer die vordere ansehen, beschreiben Cornwall und Puri sie als echtes Druesenorgan. Die vordere Druese dieses Typs ist nach der vorliegenden Literatur einfach und ohne Unterteilung. Der zweite Typ, der sich bei den Triatominen findet, wurde bisher nur in einer kurzen Beschreibung von Barreto (1922) dargestellt. Der Autor unterscheidet drei Druesenpaare, von denen er aber die beiden hinteren als «reservatórios» fuer das Sekret der vorderen haelt. Aus den folgenden Untersuchungen geht hervor, dass histilogisch und physiologisch der Speicheldruesenkomplex der Triatominen aus drei wohl unterscheidbaren Druesen besteht.

Eine homologisierende Uebersicht ueber die verschiedenen beschriebenen Druesentypen ist in der folgenden Zusammenstellung wiedergegeben :

Art/Autor	Labialdruesenteile		
	1.	2.	3.
Aphis fabae (Homoptera) Weber	Hauptdruese: Deckzellen	Hauptdruese: Hauptzellen	Nebendruese
Plesiocoris rugicollis Smith	Hauptdruese: Vorderlappen	Hauptdruese: Hinterlappen	Nebendruese
Notonecta maculata et Ranatra linearis Bugnion	Hauptdruese: Vorderlappen	Hauptdruese: Hinterlappen	Nebendruese (Reservoir)
Cimex lectularius Puri	Birnenfoermige Speicheldruese		Herzfoermige Speicheldruese
Triatoma megista Barreto	Hauptdruese	Suplementardruese (Reservoir)	Nebendruese (Reservoir)
Triatoma megista et Triatoma infestans et Triatoma sordida Barth	D 1	D 2	D 3

Am Schluss der Tabelle findet man die in dieser Arbeit verwendeten Bezeichnungen. Diese Umaenderung war notwendig, um ein richtiges Bild des Druesenkomplexes zu entwerfen. Alle drei Druesenteile sind gleichwertig, so dass hier von Haupt- und Nebendruesen nicht gesprochen werden kann. Das in die Wunde injizierte Sekret besteht aus den Komponenten der drei Druesen, die sich im Hilus zwischen D 1 und D 2 mischen. Da die Aufgabe des Sekrets im Wirtsgewebe eine vielfache und dazu seine Zusammensetzung eine komplexe ist (siehe FAURÉ-FREMIET 1910) ergibt sich, dass das Sekret nicht von einer Art Druesenzelle allein produziert werden kann, sondern von einer gewissen Anzahl unterschiedlicher Zellen, die bei Triatominen in drei getrennten Komplexen (D 1 bis 3) untergebracht sind, ueber deren Praeferenz nur nach Pruefung der physiologischen Wirkung geurteilt werden kann.

ANATOMIE DES DRUESENKOMPLEXES

Aus dem Querschnitt (Fig. 2), der Situszeichnung (Fig. 3) und dem Schema (Fig. 4) laesst sich die anatomische Lage der Speicheldruesen von *Triatoma infestans* ersehen. Der von der Speichelpumpe (SP) ausgehende Kanal (GG in Fig. 4) teilt sich noch nahe der Pumpe in zwei gleichwertige Gaenge (SG und SG' in Fig. 3 und 4). Diese als Hauptspeichelgaenge zu bezeichnenden Kanaele durchlaufen geradlinig den Kopf (naeheres siehe BARTH 1952) und treten durch das Hinterhauptsloch in den Thorax ein. Hier folgen sie durch den ganzen Prothorax hindurch dem Oesophagus, seitlich an diesen sich oft anlegend, ohne aber an ihm irgendwie befestigt zu sein, oder aber sie werden von diesem durch einen Lappen des visceralen Blattes des Fettkoerpers getrennt. Im Mesothorax, normalerweise in dessen vorderstem Teil, oft auch schon am Ende des Prothorax, seltener im Metathorax, treten die Gaenge zwischen die beiden Druesenpaare. Die vordere Druese (D 1) liegt zumeist seitlich vom Oesophagus, bezw. vom Proventrikel (PV); die mittlere Druese (D 2) liegt von D 1 aus gesehen nach innen, immer naeher zum Proventrikel hin, entweder oberhalb oder unterhalb desselben (Fig. 3). Ueberhaupt ist die Lage der Gaenge und der Druesen nicht fest. Je nach Ernaehrungszustand, Fuellung der Druesen und des Darmes und nach Entwicklngszustand sind die Teile oft betraechtlich verlagert. Besonders tritt eine Verlagerung unmittelbar vor der Haeutung deutlich in Erscheinung, wenn die neugebildeten Maxillen und Mandibeln weit in den Thorax hineinreichen und mit ihren stark erweiterten, spiralig aufgerollten Enden einen grossen Teil der vorderen Thoraxhoehle ausfuellen.

Zwischen den beiden Druesen D 1 und D 2 tritt der Hauptspeichelgang in den Hilus (Fig. 4, HI) ein. An dieser Stelle zweigt von ihm, d. h. aus dem Anfangsteil des Hilus ein etwas duennerer Kanal ab, der den Verbindungsgang (Fig. 3 und 4, VG) zwischen dem Hilus und der hinteren Druese D 3 darstellt. Er laeuft mit dem Hauptspeichelgang parallel (oft an diesen fest angelegt) zum Kopf, tritt ebenfalls in diesen ein und biegt in dessen halsartig verschmaelertem Teil ploetzlich um 180° um. Von hier aus laeuft er rueckwaerts, immer von SG und seinem ersten, nach vorne gerichteten

Teil deutlich getrennt. Er tritt, nahe der Kopfwand liegend, wieder in den Thorax ein und geht staerker divergierend nach hinten in den Metathorax, Hier tritt er von den Seiten etwa in der Mitte an die dritte hintere Druese (D 3) heran und muendet in diese. Die Lage der Gaenge geht aus den Fig. 5 bis 7 hervor.

Die Druesen sind in ihrer aeusseren Form stark unterschiedlich gebaut. Absolute Masse koennen fuer sie nicht angegeben werden, da Laenge wie Durchmesser entsprechend dem Arbeitsrhytmus betraechtlichen periodischen Schwankungen unterworfen sind. Alle drei Druesen stellen Blasen dar, die von einer einzelligen Schicht von Druesenzellen gebildet werden und nach aussen von einer peritonealen Membran mit Muskulatur eingeschlossen werden.

Die Gestalt der D 1 ist immer nierenfoermig, die konkave Seite liegt dem Proventrikel zugewandt (Fig. 3 und 8). In dieser mehr oder weniger schwachen Woelbung findet sich der Hilus, aus dessen vorderem Teil der VG zu D 3 heraustritt und in dessen parietale Seite D 1, in dessen viscerale Seite D 2 einmuendet (Fig. 4 und 9). Da die Muendung von D 2 in deren vorderen Teil, die von D 1 in deren mittleren Teil liegt (Fig. 93) sind beide Druesen derart gegeneinander verschoben, dass D 2 immer spaeter in der Querschnittsserie erscheint und so (obwohl sie kuerzer als D 1 ist) weiter nach hinten ragt. Auf diese Weise ist fuer beide Druesenpaare genuegend Raum zur Ausdehnung bei starker Fuellung gegeben.

D 2 ist in jedem Funktionsstadium wesentlich kleiner als D 1 (Fig. 3). Ihre Gestalt ist unregelmaessig lang oval, im vorderen Teil zumeist schmaler als hinten. Der Ausfuehrgang aus ihrem Innenraum liegt auf der Aussenseite ihres apikalen Teils und muendet in den Hilus.

Die Form von D 3 ist je nach Funktionsstadium lang oder kuerzer oval, immer aber regelmaessig. Sie liegt im Anschluss an die beiden vorderen Druesen weiter abdominalwaerts an den Seiten des Proventrikulus, der in der Hoehe ihres Endes in das eigentliche Mesenteron uebergeht und wenn auch dicker als der schmale Oesophagus, wenig dehnbar ist, so dass genuegend Raum fuer D 3 zur Ausdehnung uebrig bleibt. Im gefuellten Zustand reicht D 3 tief in den Metathorax hinein.

Alle drei Druesen werden von einem reich verzweigten Netz von Tracheen und Tracheolen uebersponnen. Diese Teile sind Verzweigungen eines Tracheenastes, der vom Stigma des Mesothorax kommend von hinten an die D 3 herantritt und ausser den drei Druesen auch den benachbarten Teil des Darmes und die zwischen oder um die Druesen gelegenen Fettkoerperteile versorgt. Der letztere Ast ist in Fig. 8 mit FK bezeichnet. Schon Fauré-Fremiet deutet fuer Hydrocoriden an, dass die starke Versorgung mit Tracheen daraufhin weist, dass auch D 3 entgegen den Ansichten anderer Autoren eine aktive Druese ist und kein Reservatorium darstellt.

Obwohl in der Literatur verschiedentlich bei Heteropteren von einem Hilus gesprochen wird, fehlt bisher eine naehere Beschreibung eines solchen. Lediglich Bugnion (1909) gibt von *Graphosoma lineata* ein Bild vom «l'istme» zwischen Vorder- und Hinterlappen der vorderen Druese mit spezialisierten Zellen, die ringfoermig den Isthmus umgeben, und mit Muskeln,

die an die Eingaenge zum Isthmus herantreten und die daraufhin deuten, dass hier in irgendeiner Form Ventile ausgebildet sind, auf die er aber nicht naeher eingeht.

Bei *Triatoma infestans* treffen die Ausfuehrgaenge der drei Druesen in einem kompliziert gebauten Hilus zusammen, dessen Lage aus den Fig. 4 und 9 zu ersehen ist. Die Mikroanatomie ist in den Figuren 10-21 wiedergegeben. Die Serie beginnt in Fig. 10 mit dem Punkt, wo der VG zu D 3 sich an den SG anlegt und die Basalmembranen der beiden Gaenge sich vereinigen, d. h. kurz vor der Mitte von D 1. Im weiteren Verlauf der Serie legen sich die beiden Gaenge eng aneinander (Fig. 11) und nehmen mit Zellen der peritonealen Huelle der D 1 Verbindung zu letzterer auf (Fig. 11 und 12). Waehrend dessen erfolgt an dieser Verbindungstelle eine Konzentration der Muskelfasern, von denen D 1 netzartig uebersponnen wird (Muv in Fig. 12). Die beiden Gaenge kommunizieren (Fig. 13), einen Hohlraum (CV) bildend. In dieser Hoehe wird vom Peritoneum (synzitiale, kleinkernige Masse) und der Ganghypodermis ein Spaltraum (SP_1) eingeschlossen mit kraeftiger chitiniger Wandung. Dieser Raum oeffnet sich (Fig. 14) in das Lumen von D 1. Der Rand dieser Oeffnung steht durch Tonofibrillen mit den Muskeln der Druesenoberflaeche in Verbindung (TO in Fig. 15). In den Spaltraum muendet, von den verschmolzenen Gaengen kommend, ein duenner, kurzer Kanal mit chitiniger Wandung, die deutliche Ringverstaerkungen zeigt. Unmittelbar unter dieser Muendung oeffnet sich ein zweiter ebensolcher Kanal mit etwas groesserem Durchmesser, der, von der D 1 abgewendet und schraeg nach hinten geneigt, in einen zweiten Spaltraum SP_2 in der Peritonealhuelle laeuft (Fig. 18 und 19). Nach aussen legen sich an die Wandung dieses Raumes die ersten Zellen der D 2 an; letztere ist ebenfalls gaenzlich von Muskelfasern uebersponnen. Die Muskelfasern konzentrieren sich an dieser Stelle und treten mit kurzen Tonofibrillen mit dem Rand eines weiteren Kanals in Verbindung, durch den das Lumen von D 2 Anschluss an den Hilus gewinnt (Fig. 20), so dass hier ebenfalls (entsprechend der Stelle zwischen D 1 und dem ersten Spaltraum) ein Ventil gebildet wird. Alle Kanaele und Raeume des Hilus sind von einer mehr oder weniger dicken Schicht von Chitin ausgelegt, die dieselben typischen Ringversteifungen zeigt wie die Cutícula aller Speichelgaenge. Das Chitin endet an den beiden Ausgaengen aus dem Hilus in die Druesenhohlraeume an der Stelle, wo die Tonofibrillen der Muskeln den Rand der Oeffnungen beruehren, also jeweils im Mittelpunkt der Ventile. Es ist zu vermuten, dass der Hilus insgesamt aus den Speichelgaengen hervorgangen ist und von Zellen der Peritonealhuellen der Druesen umgeben wurde, auf diese Weise einen geschlossenen Koerper zwischen beiden Druesen bildend.

Die Raender der beiden Oeffnungen der Druesenlumen stellen Ventile dar, die offensichtlich durch Muskelzug betaetigt werden. Die Mikroanatomie der Ventile ist aus der beschriebenen Querschnittsserie zu ersehen und zeigt im Aufblick auf einen Tangentialschnitt das Bild der Figur 22. Auf den grosskernigen Druesenzellen liegen zahlreiche Muskelbuendel, die sternfoermig auf die Oeffnung zum Hilus zulaufen und mit dem Rand durch kurze Tonofibrillen in Verbindung stehen. Die Funktion ist offensichtlich: Bei Kontraktion der Muskeln wird das Ventil geoeffnet, bei Erschlaffen der

Muskeln aber durch die Elastizitaet der Chitinwandung der Spaltraeume des Hilus und durch den allgemeinen Gewebsdruck wieder geschlossen. Das heisst, dass die Ventile in der Ruhe das Lumen der Druesen abschliessen und einen Abfluss des Sekrets verhindern. Nach der Form der Muskeln werden die Ventile als Sternventile (SV) bezeichnet, das zwischen dem Hilus und D 1 gelegene als SV_1, das zwischen Hilus und D 2 als SV_2.

Die Muskeln, die an den SV ansetzen, stellen relativ dicke Buendel dar. Auf der Wand der Druesen sind sie aufgespalten und ueberziehen diese als sehr feine Fasern, die zum Teil nur von einzelnen Myofibrillen dargestellt werden, die mit den benachbarten nur geringen Kontakt haben (Fig. 23). Die Querstreifung ist deutlich und zeigt immer das Diaphragma Z. Histologisch bieten sie in Bezug auf Struktur, Lage und Form desselbe Bild wie die Muskulatur des Darmes. Funktionsanatomisch bedeutet das Auftreten von Muskeln in der geschilderten Anordnung, dass bei einem Reiz zur Kontraktion der Fasern des Muskelnetzes gleichzeitig die Muskeln der SV sich verkuerzen. Werden also die beiden Druesen veranlasst, Sekret auszustossen, so findet letzteres immer offene Ventile, die sich automatisch wieder schliessen, wenn der Sekretstoss beendet ist. Im Anschluss hieran ergab sich die Notwendigkeit, die Innervierung der Druesenmuskeln zu klaeren.

Eine nervoese Verbindung zum Thoraxganglion besteht nicht. Aus der Erwaegung heraus, dass die Speicheldruesen der *Rhynchota* vergleichend anatomisch abgewandelte Labialdruesen und damit homolog den Seidendruesen der Lepidopteren u. a. sind, wurde eine Verbindung zum hinteren Abschnitt des Suboesophagialganglions gesucht. Von diesem Ganglion zweigt in der Hoehe der 3. Kommissur (= Labialkommissur) ein starkes Nervenpaar ab (*nervus labialis*), das sich sofort nach vorne wendet und zuerst seitlich, dann unterhalb der Haupttracheen des Kopfes parallel zur Laengsachse zur Kopfspitze laeuft. Hierbei wird es bald schon vom Pharynx in dem Raum eingeschlossen, der nach oben vom Pharynxboden, nach unten von der Kopfwand und nach den Seiten von den Tentorien und deren Tonofibrillen gebildet wird und in dem sich ausser den Laengstracheen auch die beiden GG zur Speichelpumpe befinden. An der Kopfspitze treten die beiden Nervenstraenge in das Labium ein, das sie bis zur Spitze unter Abgabe zahlreicher Seitenaeste durchlaufen. An der Austrittsstelle aus dem Suboesophagialganglion gibt der Labialnerv einen duennen Aset ab, der sich sofort fest an den Hauptspeichelkanal (SG) anlegt und mit ihm durch eine peritoneale Membran verbunden wird (Fig. 24). Dieser Nerv ist vermutlich die von Cornwall (1922) fuer *Cimex rotundatus* angegebene Trachee. (Zu den Hauptgaengen sagt dieser Autor: «External to each duct lies a trachea.») Von hier ab bis zum Hilus der Speicheldruesen laeuft der *Nervus glandulae labialis* (*alias salivaris*) eng dem Kanal anliegend (Fig. 24). Eine Verbindung vom Visceralnervensystem zum Speichelsystem konnte nicht nachgewiesen werden. Ebenfalls war eine solche vom unpaaren Nerv zu den Druesen nicht zu finden. Entsprechend der Zugehoerigkeit der Druesen zum Labialsegment (zweites Maxillarsegment der Crustaceen) ist dieser Modus der Innervation verstaendlich. Auf der anderen Seite ist funktionsanatomisch eine Innervierung mit motorisch-sensiblen Bahnen notwendig, um die Taetigkeit der Muskelnetze auf den Druesen und den

beiden Sternventilen im Hilus zu steuern und mit den Bewegungen der Speichelpumpe zu koordinieren.

Unmittelbar vor dem Hilus, an der Stelle, wo der VG zu D 3 entspringt, gibt der *nervus glandulae labialis* einen kraeftigen Zweig ab, dessen Durchmesser bei einem Weibchen mit 7 µ gemessen wurde (fixiertes Material mit etwa 27% Schrumpfung). Diese Abzweigung legt sich an den aufsteigenden Ast des VG, laeuft mit diesem zurueck zum Kopf und von dort mit dem absteigenden Ast des VG wieder abwaerts bis zu D 3, wo er sich am Druesenausgang in zahlreiche sehr duenne Aeste aufteilt, die sich auf der Druesenoberflaeche ausbreiten. Wenige µ unterhalb der Abweigung des Nervenastes fuer D 3 verzweigt sich der Labialdruesennerv in zahlreiche duennere Aeste, die zum Teil die Oberflaeche von D 1, zum Teil die von D 2 ueberziehen.

Die Bildung des Ventils am Ausfuehrgang von D 3 ist wesentlich anders als bei D 1 und D 2. Fig. 25 zeigt einen Laengsschnitt durch die Muendung des VG in D 3, Fig. 26-30 eine Serie von Querschnitten derselben Stelle. Der Gang legt sich eng an die Wand der Druese an (Fig. 26-28). In seinem Plasma finden sich zahlreiche ringfoermige Tonofibrillen, die in anderen Teilen des Ganges nicht gefunden werden. Der Gang besitzt bis zum Eingang in den Druesenhohlraum deutlich erkennbare, regelmassige Ringversteifungen aus Cuticularsubstanz. An der Eingangsstelle vergroessern sich seine Plasmateile (Fig. 29 und 30) und bilden zottenfoermige Falten und Vorspruenge mit zahlreichen Kernen und deutlichen Zellgrenzen. In diese Bildungen reichen Auslaeufer der ringfoermigen Tonofibrillen hinein, den Falten eine relativ feste Form gebend. In der Ruhelage sind durch die Tonofibrillen und den Gewebstonus die Falten eng aneinander gedrueckt, so dass der Ausgang aus dem Druesenhohlraum in den Gang geschlossen ist. Der Verschluss wird vervollstaendigt durch den Druck der Sekretmenge im Hohlraum, der die klappenartig in den Hohlraum hineinragenden Enden des Ganges zusammendrueckt. Die Oeffnung dieses Ventiles, das eine extreme Form des Sternventils der beiden anderen Druesen darstellt, erfolgt durch Muskelzug : Die gesamte Druese ist von einem System von feinen Muskelfasern ueberzogen, das strahlenfoermig, entsprechend der Figur 31 von der Gangmuendung allseitig ausgeht. Die Fasern sind auf der der Muendung abgewandten Seite sehr duenn, schliessen sich aber auf der ihr zugewandten Seite zu dickeren Fasern zusammen. Anastomosen wie auf den beiden anderen Druesen konnten nicht festgestellt werden. In Fig. 32 ist im Aufblick eine Faser mit einer Abzweigung dargestellt. Das Sarkoplasma des quergestreiften Muskels, dessen Diaphragma Z sehr deutlich ist, hebt sich durch seine groessere Dicht vom Protoplasma der darunter liegenden Druesenzellen scharf ab, sein Sarkolemm ist deutlich erkennbar. In der Figur sind im unteren Teil 4 Muskelkerne angeschnitten, links ein Druesenkern. Eine Kontraktion des Muskelsystems der Druese erhoeht nicht nur den Druck der Sekretfluessigkeit zum Austritt aus dem Hohlraum, sondern oeffnet gleichzeitig auch das Ausgangsventil in den Gang. Die Innervierung erfolgt durch den oben beschriebenen Nervenast des *nervus glandulae labialis*.

Damit ist fuer alle drei Druesen der Nachweis von Ventilen, Muskeln und Innervation durch das Labialganglion erbracht.

Funktion

Durch Besitz von Muskeln, Ventilen und gemeinsamer Innervation ist eine Darstellung der Funktion des Druesenkomplexes moeglich. Beim Einsetzen des Saugreflexes beginnt ausser der Pharynxpumpe auch die Speichelpumpe mit ihrer rhytmischen Arbeit. Sie saugt aus den an ihrem Grund vereinigten Speichelgaengen (SG) Sekret an, um es beim Erschlaffen der Muskulatur des Pistills durch die Elastizitaet der Wandung der Speichelpumpe in den Hypopharynx und von dort in den maxillaren Speichelkanal zu pressen. Bei groesserem Speichelbedarf der Pumpe wuerden ein Ansaugen des Sekrets durch die SG mit ihrem relativ geringen Durchmesser einen bedeutenden Zeitverlust bedingen, d. h. die Fuellung des Speichelraums wuerde zu langsam vor sich gehen, wenn dieser Vorgang nur auf Saugwirkung beruhen wuerde. Die Frequenz der Pumpenschlaege waehrend des Stiches, die bei *Bactrodes*-Arten beobachtet werden konnte, entspricht etwa 1 bis 1,5 Schlaege pro Sekunde. Es ist zu vermuten, dass die Bewegungen der Speichelpumpe der Triatominen auch demselben Rhytmus gehorchen. Indirekt kann die Bewegung der Speichelpumpe bei *Triatoma* beobachtet werden, wenn man ein Exemplar mit Chloroform betaeubt und es mit nach vorne ausgestrecktem Ruessel unter geringer binokularer Vergroesserung beobachtet. In dieser Stellung treten die Enden der Stechborsten aus dem Labium hervor, dabei laesst sich feststellen, dass an der Spitze der Maxillen eine geringe Fluessigkeitsmenge (Speichel) rhytmisch austritt. Die Frequenz wurde gemessen, aber die erhaltenen Werte schwanken in starkem Masse, wahrscheinlich wegen der fuer die Anaestesie benutzten Droge. In der Mehrzahl der Faelle benoetigt eine Pulsation eine Sekunde oder wenig mehr. Die Fuellung des Speichelraumes wird durch die Muskulatur der Speicheldruesen erleichtert, bezw. mit der notwendigen Schnelligkeit durchgefuehrt, das bedeutet, dass mit Beginn des Saugreflexes auch eine Kontraktion der Muskulatur der drei Druesen erfolgen muss, aus der eine Oeffnungsbewegung der Ventile und eine in Richtung zur Speichelpumpe sich auswirkende Druckerhoehung in der Speichelfluessigkeit resultiert. Weiterhin bewirkt der erhoehte Druck eine Vermischung der drei Komponenten des Speichels in den Spaltraeumen des Hilus. Ohne diesen Druck wuerde die Zusammensetzung des Speichels variieren, da die Wege von den drei Druesen zum Hilus unterschielich lang sind. Da es sich beim Saugreflex um die Zusammenwirkung der Labiumspitze, der Speichelpumpe und der Speicheldruesen handelt, also um Teile des Labialsegments, ist das Zustandekommen eines relativ einfachen Reflexbogens erleichtert.

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN

a) Speichelgaenge und Hilus.

Der histologische Aufbau ist in den beiden Speichelgaengen und im Hilus prinzipiell der gleiche. Der Hauptspeichelgang (Fig. 33), der von der Speichelpumpe zum Hilus laeuft und einen kreisrunden Querschnitt besitzt, besteht aus einem cuticularen Kanal (Chitinrohr), der von einem

relativ dicken Plasmamantel eingehuellt wird. Das Chitinrohr besitzt eine sehr duenne Wandung, deren Innenseite mit parallelen, transversal verlaufenden Ringen in mehr oder weniger gleichbleibendem Abstand besetzt ist. Auf den ersten Blick taeuschen diese Ringversteifungen eine Trachee vor, doch besteht zwischen beiden ein grundsaetzlicher Unterschied : Die Trachee besitzt einen Spiralfaden, der ueber ein langes Stueck der Roehre kontinuierlich verlaeuft und als Ganzes daraus hervorgezogen werden kann, dagegen finden sich im Speichelgang nur kurze zusammenhaengende Faeden, die einen oder nur wenige Umgaenge ausfuehren. Auf diese Weise findet man im Aufblick (Fig. 36) haeufig endende Faeden zwischen kompleten Ringen. Das cutilare Material der Kanalwandung zeigt ein nur wenig stark sklerotisiertes Chitin mit starker Affinitaet zu Kongorot, waehrend die Ringe wesentlich staerker sklerotisiert sind, sie nehmen kein Kongorot an, sind sehr sproede und lassen sich leicht durch Druck zerstoeren. Der physiologische Effekt der Ringversteifungen ist derselbe wie bei den Tracheen: der Kanal ist stark genug, um nicht zu kollabieren, hat jedoch nicht seine Biegsamkeit verloren. Dieser Aufbau stellt ein Analogon zur Trachea der Saeugetiere dar, in der die Versteifungen ebenfalls keinen Spiralfaden, sondern nur Ringe bilden.

Das Protoplasma des Hauptganges erreicht eine relativ grosse Hoehe, die bei einem normal ernaehrten Tier etwa 2-3 Kerndurchmessern entspricht. Die Kerne sind zumeist kugelig mit 4-6 micra Durchmesser. Sie zeigen den normalen Anblick eines ruhenden Kerns mit dicht gelagertem, zumeist wandstaendigem Chromatin. Waehrend der Haeutungsphase jedoch quellen sie stark auf unter Vermehrung des Kernwassers und sichtbarer Vergroesserung der Chromatinteilchen. In diesem Stadium ist das Protoplasma sehr fein granuliert und zeigt nach alkoholischer Fixierung eine vakuolige Struktur. Nach der Haeutung geht diese Anordnung verloren und es bilden sich Faeden, die unter einander anastomosieren und radial gestellt sind. Zellgrenzen lassen sich auch im Haeutungsstadium nicht erkennen. Die Basalmembran ist relativ kraeftig. Seitlich angeheftet findet sich immer der sehr neuroplasmareiche *nervus glanduale salivaris* (nGL).

Der Verbindungsgang (VG) zwischen Hilus und D 3 unterscheidet sich vom SG nur durch seinen etwas geringeren Durchmesser und seinen duenneren synzitialen Plasmamantel von 2-4 micra Dicke. Seine Kerne sind stark abgeflacht (Fig. 34-36). Die Muendung des VG in die D 3 zeigt die Schnittserie in den Fig. 26-30. Das Protoplasma des VG hebt sich durch seine dichte Konsistenz vom vakuoligen Protoplasma der Druesenzellen deutlich ab. Es ist von ringfoermigen Tonofibrillen durchzogen und besitzt im Vergleich zu den Druesenzellen kleine Kerne. Der Innenrand der Muendung ist in Falten und Zotten vergroessert, auf diese Weise ein Ventil bildend (s. oben).

Der Hilus zeigt das gleiche histologische Bild wie die Speichelgaenge. Auch die Wandung seiner Gaenge und Spaltraeume ist von Ringversteifungen besetzt, so dass ein Kollabieren verhindert wird. Die radiaeren Plasmaanordnungen sind haeufig so scharf fixiert, dass sie Zellgrenzen vortaeuschen koennen (Fig. 15). Die Hypodermis des Hilus beherbergt auffallend

zahlreiche kleine Kerne. Er scheint von einem duennen Auslaeufer der peritonealen Membran der Druesen ueberzogen zu sein. An den Stellen, wo sich die vereinigten Speichelgaenge der D 1 naehern (Fig. 12 und 13), werden diese von einem Zellstrang der die Druese einhuellenden *Muscuralis* erreicht. Dieser kleine Gewebekomplex besitzt Zellgrenzen und Kerne, die noch wesentlich kleiner als die der Hypodermis der Gaenge sind. In diesen Gewebsteil reichen die Muskeln des Sternventils (Fig. 13 und 14 MU), die zum Teil sich auch auf der Oberflaeche des Hilus verteilen. Im weiteren Verlauf durchbrechen die peritonealen Zellen die Schicht der Druesenzellen und bilden so den Oeffnungsrand des Sternventils. Die Muskelfasern enden schon frueher, setzen sich jedoch als Tonofibrillen durch die genannten Zellen bis zum Ventilrand fort. Als aeusseres sichtbares Zeichen, dass es bei der Bildung des Sternventils um zwei grundsaetzlich verschiedene Gewebsarten handelt, ist auf das Fehlen einer Chitinschicht am apikalen Pol der Peritonealzellen aufmerksam zu machen (Fig. 15). Dieser Befund zeigt, dass einerseits das Ectoderm an dieser Stelle (am Beginn des Sternventils) endet, dass andererseits die Speicheldruesen nicht ectodermaler Herkunft sein koennen, denn es ist kaum anzunehmen, dass das Ectoderm nach dieser Unterbrechung wieder auftritt. Beim Ausgang aus dem Hilus nach D 2 stossen wir auf die naemlichen Bildungen wie bei D 1. Auch an der Muendung des VG in D 3 ist im ersten Teil des Ventils eine aehnliche Bildung zu sehen, denn auch auf diesen Zellen, die die Falten und Zotten des Ventils bilden, findet sich keine noch so duenne Cuticula; hier ist jedoch der Unterschied zwischen den beiden Gewebsarten nicht so deutlich ausgepraegt.

b) Die Speicheldruesen

Der histologische Anblick der Druesenzellen richtet sich nach der jeweiligen Sekretionsphase. Um einen Ueberblick ueber die Arbeitsweise der Druesen zu gewinnen, wurden Reihenuntersuchungen angestellt. Hierzu wurden die Tiere in verschiedenen Abstaenden nach dem Saugen fixiert. Es wurden nur solche Exemplare verwendet, die sich vollstaendig an Meerschweinchen sattgesogen hatten, d. h. die freiwillig ohne Stoerung von seiten des Wirtstieres oder des Beobachters sich von Saugakt zurueckzogen. Die Fixierung erfolgte mit vier verschiedenen Fixadoren: Alkohol von 85%, Bouin-Duboscq-Brasil, Susa nach Hdidenhain und Flemming. Hiervon wurden fuer die histologischen Beobachtungen nur die mit Susa fixierten Druesen verwendet, waeherend die mit den anderen Fluessigkeiten behandelten Objekte fuer die Untersuchung der Sekrete dienten. Den Tieren wurde die Labiumspitze mit Celophanloesung verschlossen, um einen Abfluss des Sekrets durch Muskelkontraktionen infolge des Fixierungschocks zu verhindern. Darauf wurde in das Abdomen (seitliche ventrale Einstichstelle) die Fixationsfluessigkeit injiziert. Nach 10 Minuten wurde das Abdomen hinter dem 2. Segment abgeschnitten und der Kopf ebenfalls entfernt. Nach weiteren 20 Minuten wurden die Druesen herauspraepariert und zu Ende fixiert. Die Einbettung erfolgte ueber Alkohol-Benzol. Verwendet wurden nur erwachsene Exemplare von *Triatoma infestans*.

Aus den Reihenuntersuchungen ergibt sich folgendes Bild : Alle drei Druesen sind bei einem Hungertier (10-14 Tage nach der letzten Ernaehrung) so stark mit Sekret gefuellt, dass die Wandung von aussen betrachtet einen gespannten Eindruck macht. Die Druesenzellen sind fast ausnahmslos im Stadium der Ruhe (s. unten). In diesem Stadium ist das Tier zum neuen Stich bereit. Den gegensaetzlichen Anblick bieten die Druesen eines Tieres, das unmittelbar nach Beendigung des Saugens fixiert wurde. Hier findet man nur wenige Zellen im Ruhestadium, die meisten Zellen sind in lebhafter Aktivitaet, sei es, dass sie Sekret vorbereiten, sei es, dass sie das Sekret abstossen oder bereits in das Regenerationsstadium eingetreten sind. Je groesser der zeitliche Abstand vom Moment des Saugens ist, desto mehr ruhende oder regenerierende Zellen koennen gefunden werden. Hierbei laesst sich ein gewisser Rythmus beobachten. 5 Minuten nach dem Saugen findet sich nur eine kleine Zellgruppe in Regeneration. Sie liegt in unmittelbarer Umgebung der Ausgangsoeffnung der Druese, an die peritonealen Zellen des Ventils anstossend. (Fig. 37 RZ). Alle anderen Zellen sind in voller Taetigkeit. Nach einer halben Stunde ist die Zahl der regenerierenden Zellen stark erhoeht, alle finden sich jedoch am apikalen Pol der Druese. Nach 12-14 Stunden ist nur noch der hintere Teil der Druese in lebhafter Sekretion. In den folgenden Tagen nimmt die Zahl der sezernierenden Zellen zuerst schneller, dann langsamer ab, bis nach etwa 10-14 Tagen alle Zellen im Ruhestadium angelangt sind. Dieser Rythmus wurde in allen drei Druesenformen in gleicher Weise und in gleicher Reihenfolge festgestellt.

Obwohl die gesamte Sekretion (Bildung des Vorsekrets, Bildung des Sekrets, Transport und Ausstoss des Sekrets und Regeneration der Zellen) ein kontinuierlicher Vorgang ist, lassen sich in allen drei Druesen typische Phasen feststellen, die charakteristisch fuer die einzelnen Funktionen der Druesenzellen sind. Zwar unterscheiden sich die Druesen in Bezug auf Form und Funktion der Zellen grundsaetzlich, doch haben alle drei gemeinsame Merkmale: In jeder Druese findet sich nur jeweils eine Zellart; verschiedene Zellformen, wie sie z. B. Weber in *Aphis* fand, existieren hier nicht. Damit besitzt der gesamte Speicheldruesenkomplex im Ganzen nur drei sezernierende Zellarten. All Zellen der drei Druesen besitzen 2 gleichwertige Kerne, die waehrend der Sekretion im gleichen Rythms taetig sind. Die raeumliche Lagerung der Kerne laesst keine feste Regel erkennen, doch finden sie sich fast ausnahmslos immer in derselben Hoehe. Durch die Doppelkernigkeit ist hier wiederum ein Beispiel fuer die Vergroesserung der Kernmasse gegeben, die ohne Zweifel in direktem Zusammenchang mit der Kern-Plasma-Relation steht. Schon des oefteren wurde auf diese Vernaeltnisse in stark aktiven Druesenzellen der Insekten aufmerksam gemacht. Es handelt sich bei der genannten Relation um die Einhaltung eines gewissen Gleichgewichtes zwischen Kerngroesse einerseits und Plasmamenge und Aktivitaet des Plasmas auf der anderen Seite. Stark aktive Druesenzellen mit grossem Plasmakoerper benoetigen fuer einen geregelten und schnellen Ablauf der Zellregeneration nach der Sekretion einen grossen Kern mit einer relativ grossen Oberflaeche. Wahrscheinlich benoetigt das Plasma Substanzen (Nuclearsaeuren) des Kernes fuer die Wiederherstellung seiner Produktionsfaehigkeit. Aus diesem Grunde finden wir in Druesen, besonders in Speicheldruesen, grosse Kerne.

Hierbei duerfte es sich in den meisten Faellen um eine hochgradige Polypoidie handeln. Die Kerne sind entsprechend dem Zellkoerper haeufig langgestreckt oder verzweigt, um auf schnellstem Wege bei Beginn der Regeneration die benoetigten Kernsubstanzen an alle Plasmateile zu liefern. Ausserhalb der Insekten treffen wir aehnliche Verhaeltnisse bei den grossen vielgestaltigen Macronuclei vieler Ciliaten wieder. In einigen Faellen finden sich an Stelle der verzweigten oder gestreckten Kerne mehre oder zahlreiche gleichwertige in einer Zelle, wie z. B. die Doppelkerne in den Follikelwaenden der Ovariolen von Homopteren und hier in den Speicheldruesen der Triatominen. Als Beispiel bei den Ciliaten sei auf *Opalina ranarum* mit ihren hunderten von vegetativen Kernen hingewiesen; wahrscheinlich handelt es sich in allen diesen Faellen um von einander getrennte Teile eines stark vergroesserten Einzelkernes.

Ein weiteres gemeinsames Merkal aller drei Druesen ist die peritoneale Huelle. Sie besteht aus einer einzelligen, sehr flachen plasmatischen Membran, in der sich vereinzelt kleine scheibenfoermige Kerne mit dichtem Chromatin finden (PK). Eingebettet in Plasmaverdickungen liegen die Muskelfascikel, die in allen Richtungen die drei Druesen ueberspannen. Die Fascikel bestehen jeweils aus nur wenigen Muskelfibrillen, zum Teil (besonders auf D 1) finden sich isolieter Fibrillen (Fig. 23 und 32). Desweiteren liegen auf der peritonealen Huelle Tracheen, die in Tracheolen enden. Die Spitzen dieser Tracheolenschlaeuche dringen in D 1 in den Zellkoerper ein, in D 2 und D 3 wurden sie nicht innerhalb des Zellkoerpers festgestellt. Vereinzelt erscheinen auf den Schnitten duenne Nervenzweige, die zum *nervus glandulae salivaris* gehoeren. Die Aufspaltung des genannten Nervs laesst sich an Hand von gefaerbten Totalpraeparaten der Druesenwandungen nachweisen.

Die Zellgrenzen sind in allen drei Druesen in allen Sekretionsphasen gut sichtbar. Die Deutlichkeit laesst im Ruhestadium etwas nach.

Im folgenden werden die typischsten Bilder der sich folgenden Sekretionsphasen wiedergegeben, wobei darauf aufmerksan gemacht wird, das diese Stadien nur Augenblicksbilder der Zelle sind, da der gesamte Sekretionsvorgang kontinuierlich verlaeuft.

Die Druesenzellen von D 1

Die Zellen von D 1 sind im Vergleich zu denen von D 2 und D 3 in allen sich entsprechenden Phasen sehr plasmareich und gross; selbst in der Ruhephase uebertrifft die Hoehe der Zelle den Kerndurchmesser um das Doppelte. In Fig. 38 ist eine Druesenzelle im Querschnitt von einem Tier wiedergegeben, das vor der Fixation 19 Tage gehungert hatte. Das Protoplasma ist sehr dicht und stark faerbbar. Es ist stark mit sehr feinen Granulas beladen und bildet zahlreiche, sehr kleine vakuolenartige Raeume, die ueber die ganze Zelle verteilt sind. Es kann angenommen werden, dass diese Vakuolen bereits das Vorsekret enthalten und dass die Granulas das Bildungsmaterial hierfuer darstellen, das bei Beginn der Sekretion waehrend des Stiches durch Wasseraufnahme verfluessigt wird. In dem vorliegenden Ruhestadium scheint kein groesserer Wassertransport aus der Leibeshoehle in die

Druesenzelle stattzufinden, da das an der Zellbasis gelegene Ergastoplasma sehr dicht und ohne irgendwelche Spaltraeume erscheint. Die Bezeichnung «Ruhestadium» trifft nicht ganz zu, da die Zelle in gewissem Sinne auch jetzt noch aktiv ist, da sie das Vorsekret bezw. dessen Vorstufe in dieser Zeitspanne bildet, um im Augenblick der physiologischen Notwendigkeit waehrend des Stiches ohne grossen Zeitverlust Sekret abgeben zu koennen. Im Hinblick auf den Funktionsablauf der ganzen Druese jedoch kann von einem solchen Ruhenstadium gesprochen werden. Das gesamte Protoplasma ist von Tracheolenaesten durchzogen, deren Abzweigung von Tracheolenzellen in der peritonealen Huelle in Fig. 39 sichtbar ist. Der apikale Saum der Zelle wird von einer Randzone gebildet, die aus kurzen parallelen Plasmafaeden besteht und als Rhabdorium zu bezeichnen ist. Die beiden Kerne der Zelle in diesem Stadium sind absolut gesehen sehr gross. Das Basichromatin ist relativ dicht und haeuft sich im Mittelpunkt, durch zahlreiche sehr schwach faerbbare Lininfasern gehalten zu einer unregelmaessigen grossen Masse an, die mehrere sehr grosse Nucleoli einschliesst. Letztere zeigen eine ausgesprochene Affinitaet zu sauren Farbstoffen (Kernechtrot, Chromotrop 2 R, Eosine), so dass sie nach Faerbung mit Haematoxylin und Chromotrop deutlich rot aus dem blauschwarzen Chromatin hervorleuchten. Es wurde durch direkte Messung der Groessenindex der ovalen Kerne gemessen (= mittlerer Durchmesser). Er betraegt 14,5 micra. Das Sekret im Druesenhohlraum ist dicht und sehr fein granuliert.

In der D 1 eines Tieres, das 5 Minuten nach Beendingung des Saugens fixiert wurde, finden sich alle Zwischenstadien vom oben beschriebenen Ruhestadium bis zur Phase in voller Sekretion und zu der in Beginn der Regeneration. Bezeichnet man das Ruhestadium als Stufe 1, so folgt als Stufe 2 eine Zelle (Fig. 39), in der das Plasma bereits in voller Aktivitaet ist. Die Zelle hat ihre Hoehe mehr als verdoppelt, d. h. die Hoehe entspricht etwa 4-5 Kerndurchmessern. Dabei woelbt sich die Zelle in das Lumen der Druese hinein, da nur der Apikalrand sich an der Vergroesserung beteiligt. Wie auch aus den folgenden Stadien ersichtlich ist (Fig. 40 und 41), verlaengert sich die seitliche Zellgrenze nur wenig; der das Rhabdorium tragende Apikalrand jedoch ist sehr stark gedehnt. Dabei treten die Fasern des Rhabdoriums anfangs weniger deutlich, spaeter (Fig. 40) aber staerker auseinander. Das Protoplasma besitzt jetzt neben den noch sehr zahlreichen Granulas viele kleine Vakuolen und Spaltraeume, die aber wesentlich groesser als die in der Ruhephase sind; es macht, insgesamt gesehen, einen wesentlich lockeren Eindruck. Im Ergastoplasma treten die einzelnen Faserbuendel weit auseinander, ebenfalls laengere oder kuerzere, senkrecht stehende Spalten bildend. Seine apikale Begrenzung ist nicht mehr festzustellen, es scheinen sich die Fasern nach oben zu verlaengern. In Wirklichkeit jedoch handelt es sich um den Anschluss des Ergastoplasmas an das Protoplasma der Zelle, das besonders in Kernnaehe beginnt, sich in senkrechten Faeden zu orientieren. Es handelt sich hierbei wohl um einen rein mechanischen Vorgang, hervorgerufen durch reichlichen Wassereintritt in die Druese, worauf auch das aufgelockerte Ergastoplasma hinweist. Hierdurch waechst die Zelle in die Hoehe, da die Nachbarzellen eine Ausdehnung zur Seite hin verhindern. So werden die Plasmafaeden in Richtung des Stofftranspor-

tes gestreckt. Diese Faeden duerften auch schon in der ersten Stufe vorhanden, jedoch noch ohne irgendeine Orientierung sein. Diese Vermutung erfaehrt eine Bestaetigung durch das Auftreten der ersten kleinen Sekrettropfen, die an der Apikalgrenze die Zelle durch das Rhabdorium verlassen (Fig. 39 und 42). Diese apokrine Subitansekretion liefert nur geringe Mengen von Fluessigkeit in das Druesenlumen, hat also keine groessere physiologische Bedeutung. Sie zeigt aber an, dass in der Zelle durch die Volumenvermehrung auf Grund der Wasseraufnahme ein solcher Ueberdruck entstanden ist, dass es zu einer apokrinen Sekretion kommt. Nach dem Durchtritt des Sekrettropfens schliesst sich das Rhabdorium wieder. Es gelang nicht, einwandfrei zu entscheiden, ob bei dieser Passage die Rhabdoriumfasern verfluessigt und danach wieder regeneriert werden oder ob sie nur zur Seite ausweichen, um spaeter wieder ihren alten Platz einzunehmen. Der Zellkern nimmt an Volumen zu, sein Groessenindex betraegt 18-19 micra. Das Chromatin erscheint aufgelockerter, die einzelnen Chromatinteile sind sichtbar groesser geworden. Die Nucleoli zeigen jedoch keine Veraenderung.

Das naechste typische Bild des Sekretionsverlaufes wird von der Fig. 40 als Stufe 3 dargestellt. Der Apikalrand hat sich weiterhin vergroessert und bildet mit dem der Nachbarzellen tiefe Einbuchtungen in Richtung zur Zellbasis (Fig. 40 RE). Alle in der vorigen Stufe geschilderten Veraenderungen sind hier weiter getrieben worden. Dies gilt besonders von der faedigen Strukturierung des Protoplasmas, das jetzt bis zur Zellspitze in geschwungenen Fasern verlaeuft und zwischen sich sehr grosse Vakuolen und Spaltraeume einschliesst, die an der Spitze am groessten, in der Zellmitte jedoch kleiner, aber zahlreicher werden. Die Zahl der Granulas wird langsam geringer. Mit keiner der ueblichen Fixierungen war das Sekret in den Zellen zu faellen. Da andererseits aber das Sekret im Druesenlumen gut fixierbar ist, muss angenommen werden, dass es sich bei den Zellprodukten in den Vakuolen um ein Vorsekret handelt, das beim Austritt aus dem Zellkoerper noch eine Veraenderung zum endgueltigen Sekret durchmacht. In der Fig. 44 liegt eine Fixierung nach CHAMPY mit OsO_4 vor: Die Plasmafaeden sind sichtbar, zwischen ihnen das homogene, feinkoernige Vorsekret. Es handelt sich um ein Stadium zwischen Stufe 1 und 2.

Basal von den beiden Kernen ist in diesem Stadium eine Ansammlung runder oder schwach ovaler Mitochondrien gelegen, die auch im Stadium 3 in geringerer Anzahl vorhanden sind. Sie werden immer von einem schmalen Hof umgeben. Ihre Durchmesser betragen im Stadium 2 etwa 3 und 2,3 micra. Im Stadium 3 verringert sich ihre Groesse auf 1 und 1,5 micra. Der Hof hat aber in jedem Falle dieselbe Breite von 0,8 — 1 micron. Da im letzten Stadium diese Mitochondrien nicht mehr gefunden werden, auch an ihren Stellen keine Vakuolen zurueckgeblieben sind, ist anzunehmen, dass sie in Sekret umgewandelt worden sind.

Auch in diesem Stadium findet man eine apokrine Sekretion (in Fig. 40 nicht dargestellt, siehe Fig. 42). Das Kernvolumen hat sich weiterhin vergroessert, so dass die Kerne wesentlich aufgelockerter erscheinen. Haeufig hat es den Anschein, dass jetzt auch die Nucleoli groesser geworden seien. Der Grossenindex des Kernes belaeuft sich auf 22,4 micra.

Im letzten, die eigentliche Sekretion vorbereitenden Stadium 4 (Fig. 41) trifft man eine Zelle, die 6-7 mal hoeher ist als die der Stufe 1. Der Apikalrand laeuft tief an den Seiten mit dem Rhabdorium herab. Das Protoplasma ist bis ueber die Zellmitte in mehr oder weniger parallelen, geschwungenen Faeden angeordnet; es traegt noch zahlreiche Granulas und schliesst sehr viele Vakuolen und Spaltraeume ein, die in Richtung zur Spitze oberhalb des Kernes schnell an Groesse zunehmen. Im oberen Teil fliessen sie zu grossen Vakuolen zusammen. Die Entwicklung der Vakuolen ist an Hand der Fig. 45 a — d zu verfolgen. Rechts von Fig. 45 a ist die Lage der vier Querschnitte durch dieselbe Zelle wiedergegeben. In d nahe der Zellbasis sind nur sehr kleine Vakuolen vorhanden. In Kernnaehe werden sie deutlicher (c), fliessen in b schnell zusammen und bilden in a grosse Lakunen, die sich gegenseitig in der Form angleichen. Die apokrine Sekretion laesst in diesem Stadium stark nach, nur einzelne Troepfchen lassen sich noch finden. Die Kerne vergroessern sich nur noch wenig, ihr Groessenindex belaeuft sich auf 22,5 — 23 micra. Waehrend des Endes dieser letzten Stufe 4 vergroessert sich die Zelle auch in transversaler Richtung, jedoch nur im oberen Teil, apikal vom Kern. Diese Vergroesserung konzentriert sich mehr und mehr zur Spitze, so dass oberhalb des Kernes eine Verengung eintritt, die weiter fortschreitet und zuletzt zur Abschnuerung des oberen Zellteils fuehrt (Fig. 43; Stufe 5). Der abgeschnuerte Teil nimmt Kugelform an, waehrend sich an der Abschnuerstelle das Rhabdorium wieder schliesst. Aus einzelnen Vakuolen, die im Rest der Zelle zurueckgeblieben sind, treten auf apokrinem Wege noch einige Tropfen nachtraeglich aus (Fig. 43). Die auf merokrinem Wege abgeschnuerte Kugel besteht aus einigen grossen Sekretvakuolen und Resten von Protoplasma, das jedoch in kurzer Zeit ebenfalls in Sekret umgewandelt wird. In Fig. 43 erscheinen im oberen Teil bereits einige Austrittsstellen von Seret, spaeter loest sich die gange Kugel auf. In diesem Augenblick beginnt das Vorsekret sich umzuwandeln, denn mit Beginn der Aufloesung der Sekretkugel laesst sich das Sekret auch durch gewoehnliche Fixadoren (Alkohol, Bouin II, Susa u. a.) fixieren und erscheint als kraeftige Granulation.

Waehrend des Losloesens der merokrinen Sekretkugel aendern die Kerne, die bisher einen mehr oder weniger gleichmaessigen ovalen Umriss zeigten und wie prall gefuellt erschienen, ploetzlich ihre Form. Sie verlieren anscheinend schlagartig eine grosse Menge von Fluessigkeit, da ihr Groessenindex ohne Uebergangsgroessen von 23 micra auf 14,5 micra abfaellt; dabei wird der Umriss unregelmaessig. Der Beginn der Verformung ist in Fig. 41 bereits zu sehen. Das Bild, das die Kerne jetzt bieten, deutet auf grossen Materialverlust hin, da sie wie geschrumpft aussehen wie etwa nach einer unzureichenden Fixierung, jedoch erfolgt keine Abloesung vom umgebenden Protoplasma. Chromatinteile treten bei diesen Veraenderungen nicht aus dem Kern aus. Es scheint sich ausschliesslich um eine Abgabe fluessiger Substanzen zu handeln, denn die Chromatinmasse bleibt derart erhalten, dass die Kerne einen kompakteren Eindruck als die Kerne der ersten Stufe hervorrufen.

Der Rest der Zelle verdichtet jetzt in der Stufe 6 schnell sein Protoplasma, die Faeden werden undeutlich und die Zellhoehe faellt schnell auf die Hoehe des Ruhestadiums zurueck. (Vergleiche hierzu das Schema in Fig. 46 a).

Die Druesenzellen von D 2

Die Zellen von D 2 durchlaufen denselben Sekretionsrythmus, wie er fuer die von D 1 beschrieben wurde. Nach 19 Tagen Hunger befinden sich die Zellen mit geringen Ausnahmen im Ruhestadium (Stufe 1 in Fig. 47 und 46b). Die Hoehe der Zellen betraegt etwa das Anderthalbfache der Kernhoehe. Ueber den beiden Kernen ist das Protoplasma etwas in das Druesenlumen hinein vorgewoelbt. Es ist immer sehr dicht und zeigt keinerlei Vakuolen, sondern ist homogen und sehr fein granuliert. Die basale Ergastoplasmazone tritt nur sehr schwach hervor. Die Faeden des Rhabdoriums stehen sehr dicht. Die gesamte Grenzzone ist scharf gegen das Protoplasma abgesetzt. Die Kerne sind scheibenfoermig; im abgebildeten Langsschnitt durch die Zelle in Fig. 47 erscheinen sie stark abgeflacht. Sie scheinen nach der dicht gelagerten Chromatinmasse zu schliessen, wie die Kerne der ersten Druese polyenergid zu sein. Es finden sich 3-5 Nucleoli, die wie bei der vorigen Druese im Kernlumen durch die Chromatinstrukturen aufgehaengt und von reichlichen Chromatinpartikeln umgeben sind. Die Zellgrenzen sind scharf ausgebildet.

Beim Uebertritt in das aktive Stadium (Stufe 2 in Fig. 48 und Fig. 46 b) vergroessert sich die Hoehe der Zellen nur geringfuegig im Vergleich mit der Zelle der vorigen Druese. Das Protoplasma beginnt oberhalb der jetzt deutlicher erscheinenden Ergastoplasmazone mit der Bildung von Vakuolen, die in der Mittelzone der Zelle noch klein sind, zum Apikalteil sich schnell vergroessern und oberhalb der Kerne zu einer einzigen grossen Lakune zusammenfliessen. Die Lakune wird apikalwaerts durch das Rhabdorium abgegrenzt. Letzteres wird jetzt in mehr oder weniger reichlichem Masse von Sekrettroepfchen als apokrine Subitansekretion durchbrochen. Die Ergastoplasmazone ist sehr dutlich ausgebildet, von ihr ziehen einige geschwungene Protoplasmafaeden in das Zellinnere. Der Kern ist jetzt auch horizontal wesentlich groesser geworden, wie auch vertikal eine Groessenzunahme eingetreten ist. Seine Chromatinteile sind noch weiter auseinander gerueckt. Eine apokrine Sekretion wird in dieser Phase nur noch selten beobachtet.

Der Prozess der Sekretbildung ist damit abgeschlossen und die Zelle tritt in das letzte Stadium ein (Stufe 4 in Fig. 50 und 46 b), in dem das Sekret explosionsartig durch Platzen des Apikalrandes in das Druesenlumen entleert wird. Dieser Sekretionsvorgang ist noch als apokrin zu bezeichnen, da keine Protoplasmateile mit entleert werden. Man kann ihn als Uebergangsform zur merokrinen Sekretion betrachten; um diesem Ausdruck zu geben, wird er als apomerokrin bezeichnet. In dieser Stufe ist das Protoplasma bereits ohne irgendwelche Vakuolen. Der Basalrand der sich entleerenden Lakune bildet sich zurueck (Fig. 50), auch das Ergastoplasma wird reduziert und erscheint nur noch als schmale basale Zone der Zelle. Das letzte Vorsekret

tritt noch aus der Zelle aus, dann schliesst sich der Oeffnungsspalt des Rhabdoriums und die Zelle kehrt zum Ruhestadium zurueck (Stufe 5 in Fig. 46 b). Im Augenblick, wenn die Lakune sich oeffnet, wird aus dem Kern eine betraechtliche Menge Fluessigkeit ausgestossen. Sein Umriss wird irregular und das Chromatin rueckt naeher zusammen. Wahrscheinlich treten in dieser Phase die fluessigen Kernsubstanzen in das Protoplasma ueber, die fuer seine Regeneration notwendig sind, um sich auf einen neuen Sekretionsstoss vorzubereiten.

Das Sekret scheint noch eine zeitlang als Vorsekret im Druesenlumen zu verbleiben, da ueber den entleerten Drusenzellen noch waehrend der ersten Regenerationsstadien diese «Explosionswolken» zu beobachtem sind. Sie fuellen sich langsam mit Granulationen und schliesslich gleichen sie sich der Sekretmasse im Aussehen an. Es ist hier auf eine Zone von stark konzentriertem Sekret hinzuweisen, die sich sowohl in der D 1 wie auch hier in D 2 unmittelbar ueber den Grenzsaeumen der Zellen regelmaessig findet, weniger ueber regenerierenden als ueber wachsenden Zellen der Stufen 2 und 3. Wahrscheinlich handelt es sich bei dem aus der Zelle austretenden Vorsekret und dem abgelagerten Sekret der Druesenhoehle um dieselben chemischen Substanzen, die jedoch im Druesenhohlraum stark konzentriert sind, waehrend sie in stark verduenntem Zustand aus der Zelle heraustreten. Wenn nun bei der Zubereitung der Sekrete in Stufe 2 und 3 die Zelle grosse Mengen von Wasser zur Verfluessigung der Vorsekrets benoetigt, wird dieses sowohl basal mit den Nahrungsstoffen aus der Leibeshoehle (siehe die deutliche Ergastoplasamazone und das ebenso deutliche Rhamdorium in Stufe 2 und 3) wie auch apikal aus der Druesenhoehle gezogen. Hierdurch wird einmal das Druesenlumen bei weiterer Sekretion nicht zu schnell ueberladen und andererseits erhaelt die Zelle auseichend Wasser zur Loesung der Vorsekrete. Diese Verdichtungszone kann in D 2 deutlich durch basische, in D 1 durch saure Farbstoffe sichtbar gemacht werden.

In den Zellen von D 2 wurden in keinem Stadium Mitochondrien oder andere Plasmadifferenzierungen gefunden.

Die Druesenzellen von D 3

Ein wesentlich anderes Bild bietet die Histologie der Zellen von D 3. Im Ruhestadium (Stufe 1 in Fig. 51 und 46 c) eines Exemplars nach 19 Tagen Hungerzeit ist der Protoplasmakoerper sehr niedrig. Er erreicht kaum die halbe Hoehe der Kerne, so dass an den beiden Kernen die Zelle aufgetrieben erscheint. Das Protoplasma ist sehr dicht, ohne Vakuolen. Die Zellgrenzen sind deutlich sichtbar. Die beiden Kerne sind in starkem Masse scheibenfoermig geworden mit sehr dichtem Chromatin und zahlreichen, zentral gelegenen Nucleoli. Ein Grenzsaum laesst sich nicht nachweisen, doch scheint der Apikalrand nicht scharf begrenzt zu sein, er macht immer einen verschwommenen Eindruck, so dass man zu der Annahme gefuehrt wird, dass es sich um einen Grenzsaum kleinsten Ausmasses handeln koennte.

In der zweiten Stufe (Fig. 52 und Fig. 46 c) waechst der Plasmaleib schnell zur 2-3 fachen Hoehe des Ruhestadiums an. Das Protoplasma zeigt keine ausgesprochenen Vakuolen, sondern groessere und kleinere Spalten

zwischen den vertikal angeordneten Faeden. Die Kerne sind stark angeschwollen sowohl in horizontaler wie in vertikaler Richtung. Das Chromatin ist aufgelockert und die 5-8 Nucleoli werden sichtbar, die in der ersten Stufe unter dem Chromatin verborgen lagen. Auch in diesen Kernen laesst sich die Aufhaengung der Nucleoli im Chromatingeruest deutlich wahrnehmen (Fig. 53).

Beim weiteren Fortschreiten der Sekretbildung waechst die Zelle noch um das Doppelte in die Hoehe. In der Breite nimmt sie nicht mehr zu (Stufe 3 in Fig. 53 und 46 c). Das Plasma zeigt sehr deutliche senkrechte Streifung, einzelne staerkere Granulationen finden sich in den Faeden. Dazwischen bilden sich grosse Spaltraueme, die nach gewoehnlichen Fixierungen leer erscheinen; nur nach Behandlung mit OsO_4 und Sublimat wird eine feine Granulierung sichtbar. Am Ende dieser Phase erfolgt der Austritt des Sekrets (Fig. 53 und 46 c.). Hierbei faellt die Zelle zusammen, verliert schnell an Hoehe und kehrt zum Ausgangsstadium zurueck. Waehrend des Sekretaustritts schrumpfen ebenfalls die Kerne wie fuer D 2 im entsprechenden Stadium dargestellt (Fig. 54 KE).

Das Sekret im Druesenhohlraum ist nur mit OsO_4 als sehr lockeres Geruest von Faeden und feineren oder groesseren Granulas zu faellen. Durch die Alkohol-Behandlung wird in allen anderen Faellen das Sekret aufgeloest, so dass die Druesenhoehle, auch wenn sie prall gefuellt ist, voellig leer erscheint.

PHYSIOLOGISCHE BEMERKUNGEN

Soweit es im Interesse der Erklaerung der Funktion der Speicheldruesen erforderlich war, wurden Beobachtungen ueber die Natur der Sekrete gemacht Die Speichelfluessigkeit, die beim Stich den Injektionskanal der Maxillen verlaesst, ist ein Gemisch von wenigstens drei Komponenten. Wie die Zellen der drei Druesen unterscheiden sich auch die drei Sekrete. Sie werden beim Stich teils durch die Bewegung der Speichelpumpe aus den Druesenhohlraeumen herausgesogen, teils durch Kontraktion der Muskeln herausgepresst. Hierbei mischen sich die Sekrete von D 1 und D 2 im ersten Spaltraum des Hilus (SP_1 in Fig. 4 und 9) und verlassen diesen durch den Verbindungskanal zu jenem Hohlraum (CA in Fig. 9), in den der Verbindungsgang zur D 3 muendet. Die Sekrete der drei Druesen werden also in einer feststehenden, durch den Bau des Hilus geregelten Reihenfolge zur endgueltigen Speichelfluessigkeit gemischt.

Zur Pruefung der Eigenschaften der Sekrete wurden die Druesen in isotonischer Loesung (0,7% KCL + 0,3% Na Cl in destilliertem Wasser) herauspraepariert. Bereits die natuerlichen Farben der drei Druesen sind unterschiedlich: D 1 ist gelblich und stark opak; die Farbe wird durch das Sekret hervorgerufen. Ein deutlicher Unterschied besteht in der Intensitaet der Farbe: In einem Tier, das gerade aufgehoert hat zu saugen, ist das Sekret hellgelb; in einem Hungerstadium ist es dagegen wesentlich dunkler gelb. D 2 ist immer farblos, jedoch etwas opak. D 3 ist glasklar und durchsichtig, ohne Truebung und Faerbung. Waehrend D 2 und D 3 in allen Stadien prall gefuellt sind, nimmt das Volumen von D 1 mit zunehmender Hungerzeit lau-

fend ab, so das die Druese hernach nicht mehr die gespannte Wandung besitzt wie im Anfang. Es erweckt den Eindruck, als wuerde das Sekret durch Wasserentzug im Druesenhohlraum eingedickt. Sticht man in der isotonischen Loesung eine D 1 eines gerade gesaettigten Tieres an, so tritt das Sekret relativ schnell aus, Schlieren bildend, die sich schnell in der Fluesigkeit aufloesen. Im Gegensatz dazu tritt das Sekret aus der D 1 eines Hungertieres bei Durchbohrung nur aus, wenn man einen gewissen leichten Druck auf die Wandung ausuebt. Die austretenden Schlieren sind staerker und deutlicher als im ersten Fall und loesen sich nur sehr langsam auf. Diese Unterschiede konnten fuer D 2 und D 3 nicht beobachtet werden.

Mit OsO_4 (0,9% ig in Chromsaeure) braeunt sich D 1 ganz schwach, hervorgerufen durch die Fixation der Zellen; das Sekret aendert seinen Farbton nicht. D 2 wird anfangs hellgrau, mit dem langsamen Eindringen der Saeure jedoch dunkelt es bis zum voelligen Schwarz nach (in 24 Stunden). Das Sekret von D 3 zeigt eine ganz schwache hellgelbe Faerbung, doch bleibt die gesamte Druese unbehindert transparent, waehrend D 1 und D 2 durch die Fixierung voellig opak werden. Oeffnet man solcher Art fixierte Druesen, so sind die Sekrete von D 1 und D 2 vollstaendig gefaellt, waehrend das von D 3 fluessig bleibt, jedenfalls makroskopisch keine Koagulierung zeigt.

Obwohl die Affinitaet zu Farbstoffen ueber die Eigenschaften des Sekrets recht wenig positives aussagt, wurden einige Pruefungen mit verschiedenen Substanzen durchgefuehrt, die folgendes Ergebnis zeitigten: Das Sekret von D 1 verhaelt sich bei Supravitalfaerbung positiv zu: Neutralrot, Nilblausulfat, Janusgruen, Anilinblau und Methylenblau; das von D 2 positiv zu : Purpurin, Orange, Fuchsin und Chromotrop. Das Sekret von D 3 zeigte nur mit Anilinblau eine sehr schwache Faerbung. Vitalfaerbungen durch Injektion von Neutralrot, Nilblausulfat und Janusgruen ergaben ebenfalls Faerbungen ausschliesslich des Sekrets von D. 1. Eine Supravitalfaerbung mit Sudan III ergab nur eine sehr schwache Faerbung von D 2 und D 3.

Schnitte zeigten bei «Azanfaerbung» nach HEIDENHAIN intensives Blau in D 1, intensives rot in D 2, waehrend das Sekret von D 3 ungefaerbt blieb. Mit Methylenblau-Orange wurde das Sekret von D 1 blau, das von D 2 orange gefaerbt, das von D 3 blieb farblos. Eine Gegenfaerbung mit Chromotrop 2 R ergab in allen drei Faellen Rotfaerbung. Gegenfaerbung mit Purpurin erbrachte rot gefaerbtes Sekret in D 2, mit Naphtholgruen ein gruen gefaerbtes Sekret in D 1.

Aufschlussreicher sind Beobachtungen der Fixierungseffekte. Mit reinem Alkohol werden die Sekrete von D 1 und D 2 sehr dicht fixiert, dabei koaguliert das von D 1 in sehr kleinen, das von D 2 in groesseren Granulas; das von D 3 wird nicht fixiert, diese Druese und die zahlreichen Spaltraeume im Protoplasma der aktiven Zellen erscheinen voellig leer. Dagegen ist das Protoplasma der Zellen von D 1 und D 2 sehr dicht granuliert und zeigt gefuellte Vakuolen. Eine Fixierung mit BOUIN II (alkoholische Modifikation) fixiert die Sekrete von D 1 und D 2 sehr dicht (bei D 1 in feineren, bei D 2 in groeberen Granulationen), waehrend das von D 3 nicht gefaellt wird. Sublimathaltige Fluessigkeiten fixieren ebenso, doch wird das Sekret von D 3 mit SUSA (nach HEIDENHAIN) fixiert und bildet wenige duenne, netz-

artig verbundene Faeden. Ebenfalls wird das Sekret von D 3 durch osmiumhaltige Mittel (FLEMMING, CHAMPY, CIACCIO) gut fixiert, bildet aber nur duenne Faeden, die sehr fein granuliert sind. Es bleiben aber auch mit dieser Fixierung nur ganz geringe Reste des Sekrets von D 3 erhalten, der weitaus groesste Teil geht verloren. Bei Osmiumfixierung bleiben vom Sekret von D 1 nur ganz geringe Reste in gerade gesaettigten Tieren erhalten, waehrend in Hungertieren D 1 voellig sekretlos erscheint. Wahrscheinlich handelt es sich bei den genannten geringen Fixierungsprodukten um Reste des Protoplasmas, das bei der merokrinen Sekretion waehrend und unmittelbar nach dem Saugen in den Druesenhohlraum gelangt ist und noch nicht in Sekret umgesetzt worden ist. Im Hohlraum von D 2 erscheint nach Osmierung eine dichte, sehr grob granulierte Sekretmasse.

Aus den Beobachtungen der fixierten und gefaerbten Druesensekrete geht hervor, dass die drei Komponenten, D 1-3, des Druesenkomplexes nicht nur anatomisch und histologisch, sondern auch physiologisch wohl zu unterscheiden sind. Es zeigt sich, das D 1 und D 2 albumoide Substanzen produzieren, von denen die von D 1 als rhagiocrin-cyanophil, die von D 2 als rhagiocrin-erythrophil zu bezeichnen ist. So ergibt sich in Paralelle zu den von verschiedenen Autoren (FAURÉ-FREMIET, ZWEIGELT, WEBER u. a.) beschriebenen Arten (wie *Notonecta, Naucoris, Lethocerus, Aphis* u. a.), das D 1 und D 2 den Unterteilungen der Hauptdruesen entsprechen (etwa wie bei *Notonecta glauca*). D 3 liefert bei *Triatoma infestans* ein stark waessriges Sekret mit geringen lipoiden Substanzen.

Zur Pruefung der Wirkungsweise der Sekrete wurde der Einfluss der isolierten Sekrete auf Blut von Meerschweinchen untersucht. Mit Mikropipetten wurde mit Hilfe des Mikromanipulators Fluessigkeit aus den Druesen entnommen und sogleich die 2-3 fache Menge von frischem Meerschweinchenblut (in der Verduennung 1:3 mit physiologischer Loesung) nachgesogen und die Wirkung auf das Blut mikroskopisch beobachtet. Gleichzeitig wurden Druesen herauspraepariert und in frischem Meerschweinchenblut mit demselben Verduennungswert zerrieben. Es zeigte sich, dass D 1 in jedem Falle eine Koagulation des Blutes absolut verhindert, waehrend durch die Sekrete von D 2 und D 3 eine Koagulation weder verhindert noch verzoegert werden konnte. Durch die Verwendung von entfibriniertem Blut konnte die haemolytische Wirkung beobachtet werden: Das Sekret von D 1 und D 3 hat keine, das von D 2 schnelle haemolytische Wirkung. Dagegen zerstoert das Sekret von D 1 nach 24 Stunden Einwirkung (bei 25°-27°) das durch das Sekret von D 2 aus den Erythrozyten befreite Haemoglobin vollstaendig. Entsprechende Proben zeigten, dass dieser Effekt durch das Sekret der beiden anderen Druesen nicht erreicht wird.

Die Eigenschaft, dass das Sekret von D 1 die Koagulation verhindert, ist fuer Blutsauger von groesster Wichtigkeit, um einen Verschluss des Saugkanals, sei er auch relativ sehr gross, zu verhindern. Die Wirkung des Sekrets von D 2 ist haemolytisch. Hierdurch wird bereits die Verdauung des Blutes vor und beim Eintritt in den Saugkanal begonnen. Andererseits kann die Haemolyse eventuelle Verstopfungen des Saugweges wieder beseitigen. Eine vollstaendige Zerstoerung der Erythrozyten tritt jedoch durch den Spei-

chel nicht ein, denn im Kropf findet sich noch viele Tage nach dem Saugen der groesste Teil der Blutkoerperchen gut erhalten vor. Die abbauende Wirkung des Sekrets von D 1 fuer Haemoglobin ist eine weitere Einleitung der Verdaunng, vergleichbar etwa der Wirkung des Speichels der Saeugetiere.

Da das Sekret von D 3 weder einen antikoagulierenden noch haemolytischen Faktor besitzt, wird aus den weiter folgenden Gruenden angenommen, dass es als Traegerstoff (Vehiculum) der beiden anderen Sekrete dient. Das Sekret von D 3 ist im Verhaeltnis zu denen von D 1 und D 2 in reichlicher Menge vorhanden. Die Menge der in ihm geloesten organischen Stoffe ist sehr gering. Diese Substanzen sind oeliger Natur und sind damit geeignet, die beiden anderen Sekrete zu emulgieren. Weiterhin erfolgt in D 3 keine Konzentration der Sekretsubstanzen wie in D 1 und D 2, da in allen Stadien die Menge der organischen Subtanzen die gleiche ist. Danach haben wir uns den Sekretausstoss in der Weise vorzustellen, dass die Sekrete von D 1 und D 2 in konzentrierter Form die Druesenhohlraeume verlassen, sich im ersten Spaltraum des Hilus mischen und von dort in den Raum eintreten, in dem der Verbindungsgang von D 3 mit dem Hauptspeichelgang kommuniziert (A in Fig. 9). Hier trifft das Gemisch mit dem Sekret von D 3 zusammen, das in groesserer Menge in den Raum CA eintritt, da die Muendung des VG in CA vielmals groesser ist als der duenne Kanal, der den ersten Spaltraum mit CA verbindet. Das bis hierher zaehfluessige Gemisch der Sekrete von D 1 und D 2 wird jetzt in einem bestimmten Verhaeltnis verduennt und vielleicht durch die fettigen Substanzen des Vehiculums emulgiert, so dass das endgueltige Speichelgemisch jetzt von der Speichelpumpe angesogen werden kann. Das Mischungsverhaeltnis haengt von dem Grad der Kontraktion der Druesenmuskeln und von der Oeffnung der Sternventile, wie auch vom Querschnitt der Ausfuehrgaenge direkt ab.

Es war nicht moeglich festzustellen, welches der drei Sekrete eine hyperaemische Wirkung hervorruft. Diese Wirkung ist bei den Triatominen zwar vorhanden, jedoch sehr gering, wesentlich geringer als bei Cimexiden oder gar raeuberischen Wanzen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Speicheldruesen von *Triatoma infestans* anatomisch und histologisch beschrieben. Die Speicheldruesen bilden als modifizierte Labialdruesen ein Paar von Druesenkomplexen, von denen jeder aus drei Druesen besteht. Jede Druese setzt sich zusammen aus einer Wand mit einer einschichtigen Zellage, die einen relativ grossen Hohlraum, Reservatorium, einschliesst. Die beiden ersten Druesen (D 1 und D 2) liegen eng nebeneinander. Zwischen ihnen findet sich ein Hilus, in den ein langer Verbindungsgang einmuendet, der aus der weiter hintengelegenen dritten Druese (D 3) kommt. Durch den Hilus werden die drei Sekrete der Druesen in immer gleichem Verhaeltnis automatisch gemischt, die Zusammensetzung der Speichelfluessigkeit kann somit nur in geringem Masse schwanken.

Alle Druesen besitzen eine Oberflaechenmuskulatur und von Muskeln zu oeffnende Ventile. Die Innervation erfolgt vom hinteren Teil des Suboesophagialganglions (Labialsegment) durch den *nervus glandulae salivaris* (*labialis*), der sich dem Hauptspeichelgang (zwischen Hilus und Speichelpumpe) anlegt und nach allen drei Druesen Zweige abgibt.

Der ectodermale Teil des Speichelapparates endet im Mittelpunkt der Ventile aller drei Druesen. Die Gaenge und der Hilus sind mit Cuticula ausgekleidet.

Die Zellen aller drei Druesen sind doppelkernig.

Jede Druese besitzt einen charakteristischen Sekretionstyp. Hungertiere zeigen fast ausschliesslich Druesen im Regenerationsstadium oder im Ruhestadium. Der Ausstoss des Sekrets aus den Zellen in den Druesenhohlraum erfolgt waehrend und kurz nach dem Stich. Hierdurch wird die beim Stich verwendete Speichelmenge ersetzt. Es ist ein Zusammenhang zwischen Kern und Plasma waehrend und nach der Sekretion festzustellen. Es wird die HEIDENHAIN'SCHE Ansicht bestaetigt, das die Sekretbildung ein autonomer Vorgang des Protoplasmas ist, waehrend die Regeneration des Protoplasmas mit Hilfe von fluessigen Substanzen erfolgt, die waehrend des Sekretionsaustritts aus dem Kern in das Plasma abgegeben werden. Diese Substanzen bilden sich im Kern zur Zeit der Bildung der Sekrete.

Die Hauptsekretion von D 1 ist merokrin, die von D 2 apomerokrin und die von D 3 apokrin. In D 1 und D 2 erfolgt vor der Hauptsekretion noch ein apokriner Sekretaustritt, der mengenmaessig nur gering ist.

Nach der Sekretion erfolgt in D 1 und D 2 eine Kondensierung des Sekrets im Druesenhohlraum durch Rueckfluss von Wasser in die Druesenzellen.

Beim Stich werden die beiden zaehfluesigen Sekrete von D 1 und D 2 im Hilus mit dem waessrigen Sekret von D 3 gemischt; vielleicht kommt es zur Bildung einer Emulsion, wobei das schwach lipoide Sekret von D 3 als Traegerstoff (Vehiculum) dient.

Das Sekret von D 1 ist als rhagiokrin-cyanophil, das von D 2 als rhagiokrin-erythrophil und das von D 3 als lipokrin zu bezeichnen.

Das Sekret von D 1 wirkt einer Koagulation von Blut entgegen und baut Haemoglobin ab; das von D 2 ist haemolytisch. Der schwache hyperaemische Faktor konnte nicht lokalisiert werden.

SUMMARY

There is apresented an anatomical and histological description of the salivary glands of the *Triatoma infestans*. Being modificated labial glands, the salivary glands represent a pair of glandular complexes each of which with three glands. Each gland is composed of a wall with an unicellular layer including a relatively spacious cavity, the so-called reservatory .The two

first glands (D 1 and D 2) are situated closely togheter. Between them lies a hilus, into which enters a long canal of ligation comming from the third gland (D 3) situated more backward. By intercalation of the hilus the three excretions of the different glands are mixed automaticaly, always in the same proportion, so that the composition of the salivary liquid oscilates only in an unimportant rate.

All the glands possess a muscular system on their surfaces and valves to be opened by muscles. The innervation is effected from the posterior part of the suboesophagial ganglion (labial segment of the head) by the *nervus glandulae salivaris* (*labialis*). This nerv accompanies the general salivary duct (between the hilus and the salivary pump) and is divided in three branches which run to each of the three glands.

The end of the ectodermal part of the salivary sistem lies in the middle of the valves of all the three glands. The ducts and the hilus are provided with a cuticula.

The cells of all the three glands possess two nuclei.

Each gland shows a typical manner of excretion. Hungry animals possess almost exclusively cells in the state of regeneration or repouse. The expulsion of the excretion out of the cells is effected during or a little after the sting; the liquid enters the cavity of the gland, so that quantity of saliva, used during the sting, is compensated. There is to be observed a correlation between protoplasm and nuclei during and after the expulsion of the saliva. The opinion of HEIDENHAIN could be confirmed that the formation of the excretion is a autonomous process of the protoplasm whilst the regeneration of the protoplasm is effected by means of fluid substances which during the expulsion of the excretion passes from the nucleus into the protoplasm. The substances are formed in the nucleus during the formation of the excretion in the protoplasm.

The principal excretion expulsion of the D 1 is performed in a merocrine, that of D 2 in an apomerocrine and that of D 3 in an apocrine way. Intending the principal expulsion in D 1 and D 2 there is still to be observed an apocrine one, but the expulsed quantity is only very small.

After the expulsion in D 1 and D 2 the excretion is condensed in the cavity of the glands by the return of a certain quantity of water into the gland cells.

During the sting the two viscous liquids of D 1 and D 2 are mixed in the hilus with the watery excretion of D 3; it may be that there is formed an emulsion in which the small lipoid excretion of D 3 acts as vehiculum.

The excretion of D 1 is pointed out rhagiocrine-cyanophyl, that of D 2 rhagiocrine-erythrophyl and that of D 3 lipocrine.

The excretion of D 1 acts against coagulation of blood and destroys haemoglobina; that of D 2 is a haemolytical one. The soft hyperaemic factor could not be located.

LITERATUR

Awati, P. R.

1914. The mechanism of suction in *Lygus pabulinus L.* Proc. Zool. Soc. London, 1914.

Barth, R.

1952. Anatomische und histologische Studien ueber die Unterfamilie *Triatominae* (*Heteroptera, Reduviidae*). I, Teil 1952, II. Teil 1953. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. *50* et *51*.

Boenning, K.

1929. Insekten als Uebertraeger von Pflanzenkrankheiten. Z. angew. Entomol. Vol. *15*.

Brandes, E. W.

1923. Mechanics of inoculation with sugar-cane mosaic by insect vectors. J. Agricult. Res. Vol. *23*.

Brocher, F.

1925. L'appareil buccal des larves de *Psylla pyrisuga* Tstr. Étude anatomique et physiologique. Ann Soc. entomol. France. Vol. *94*.

Bugnion, E. et N. Popoff

1908-1909. L'appareil salivaire des Hemiptères. Archives de Anat. microsc. Vol. *10* et Vo. *11*.

1911. Les pièces buccales des Hemiptères. Archives de Zool. Exper. 5. Sér. Vol. *7*.

Dewitz, J.

1917, 1918. Ueber Haemolysine bei Pflanzenlaeusen. Zool. Anz. Vol. *48*

Fauré-Fremiet

1910. Contribution à l'étude des glandes labiales des Hydrocorises. Ann. des Sci. natur. (Zool.), 9. Sér., Vol. *12*.

Hase, A.

1924. Ueber die Stiche der Wasserwanze *Notonecta glauca*. Zool. Anz. et Vol. *49*.

Puri, I. M.

1924. Studies on the anatomy of *Cimex lectularius*. Parasitology, Vol. *16*.

Weber, H.

1928. Skelett, Muskulatur und Darm der schwarzen Blattlaus *Aphis fabae* Scop. Zoologica. Vol. *28*.

1928. Zur vergleichenden Physiologie der Saugorgane der Hemipteren. Z. vergl. Physiol. Vol. *8*.

1929. Kopf und Thorax von *Psylla mali* (*Hemiptera-Homoptera*). Z. Morph. u. Oekol. Tiere, Vol. *14*.

1930. Biologie der Hemipteren. J. Springer Berlin, 1930.

Zweigelt, F.

1914. Beitraege zur Kenntnis des Saugphaenomens der Blattlaeuse und der Reaption der Pflanzenzellen. Zbl. Bakter. II, Vol. 42.

Weitere Literaturangaben in Weber, 1930. Literatura mais minuciosa veja sob Weber, 1930.

ABKUERZUNGEN IN DEN ABBILDUNGEN

I-III	1.-3. Thoraxsegment
AZ	Druesenzellen in apokriner Sekretion
EM	Basalmembran
CA	Kopf
CH	Chitinring
CN	Condylus
CR	Rueckengefaess
CV	Mischhoehle des Hilus
CW	Chitinwandung
DK	Druesenzellkern
DZ	Druesenzelle
D_1 - D_3	1. bis 3. Druese
EP	Ergastoplasma
FO	*Foramen occipitalis*
GG	Unpaarer Speichelgang
GR	Granulas
GT	Thorakalganglion
GZ	Zellgrenze
HI	Hilus
HP	Hypopharynx
IN	Darm
LA	Labium
ME	Mesenteron
MI	Mitrochondrien
MK	Muskelkerne
MP	Myoplasma
MS	Merokrine Sekretionskugel
MU	Muskeln
MU_1	*musculus retractor maxillae*
MU_2	*musculus retractor mandibulae*
MUR_1	Netzmuskel der ersten Speicheldruese
MUR_2	Netzmuskel der zweiten Speicheldruese
MUR_3	Netzmuskel der dritten Speicheldruese
MUV	Muskel des ersten Sternventils
MUV'	Muskel des zweiten Sternventils
MX	Maxille
NE	Nerv
NGL	*nervus glandulae labialis*
NK	Nahrungskanal
NL	*nervus labialis*
OE	Oesophagus
PE	Peritonealgewebe
PL	Protolasma
PV	Proventrikel
PZ	Zellen des Peritonealgewebes
RE	Einschnitt zwischen zwei sezernierenden Zellen
RH	Rhabdorium
RZ	Druesenzelle im Ruhestadium
SB	Suboesophagialganglion
SB_3	Drittes Segment des Suboesophagiaalganglions
SE	Sekret
SG et SC'	Speichelgang
SH	Sehne
SK	Saugkanal
SP	Speichelpumpe
SP_1 et SP_2	Erster und zweiter Spaltraum des Hilus
SV	Erstes Sternventil
SZ	Druesenzellen in voller merokriner Sekretion
TH	Tracheole
TK	Kern der Tracheolenzelle
TO	Tonofibrillen
TR	Trachee
TR'	Linke Kopftrachee
VA	Vakuole
VE	Ventil
VG	Vergindungsgang

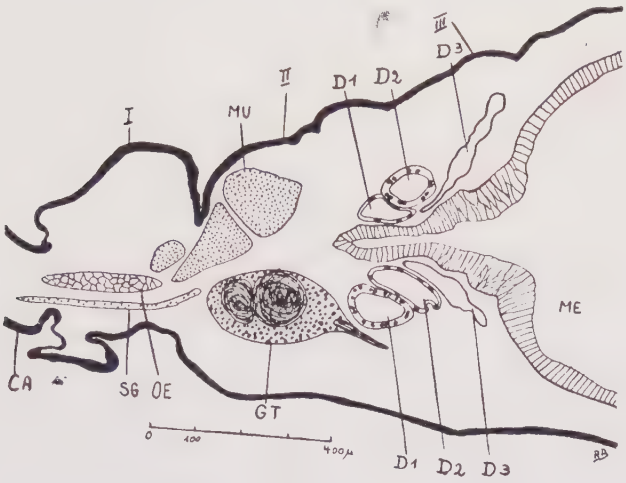


Fig. 1

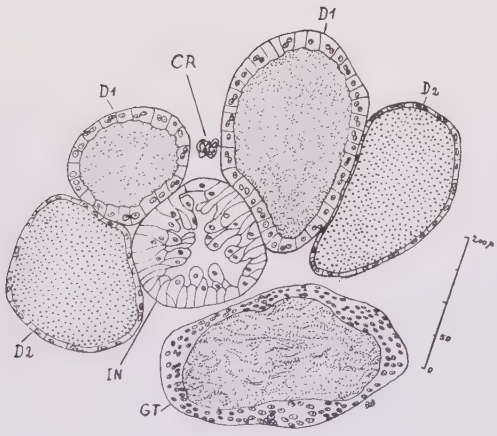


Fig. 2

Fig. 1 — Corte longitudinal medial do tórax com a localização das glândulas salivares.

Fig. 2 — Corte transversal do complexo das glândulas salivares na altura do centro do gânglio toráxico.

Fig. 1 — Medianer Laengsschnitt durch den Thorax mit der Lage der Speicheldruesen.

Fig. 2 — Querschnitt durch den Speicheldruesenkomplex in der Hoehe der Mitte des Thorakalganglions.

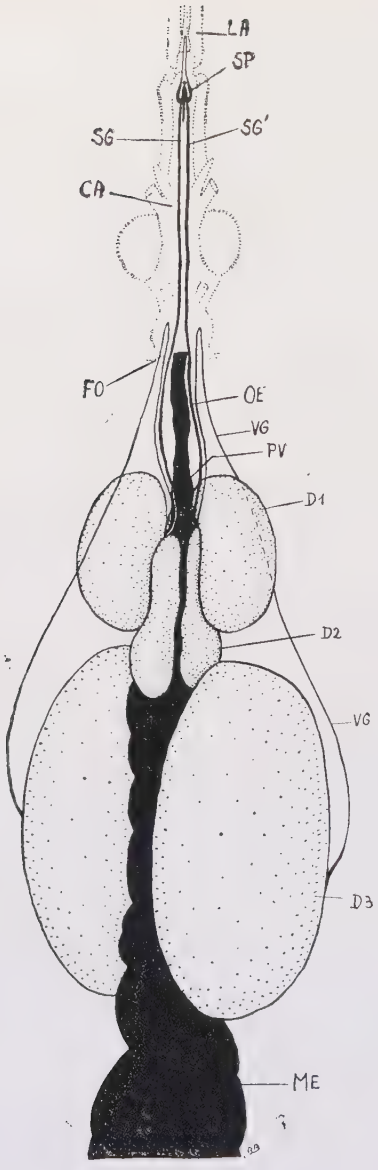


Fig. 3

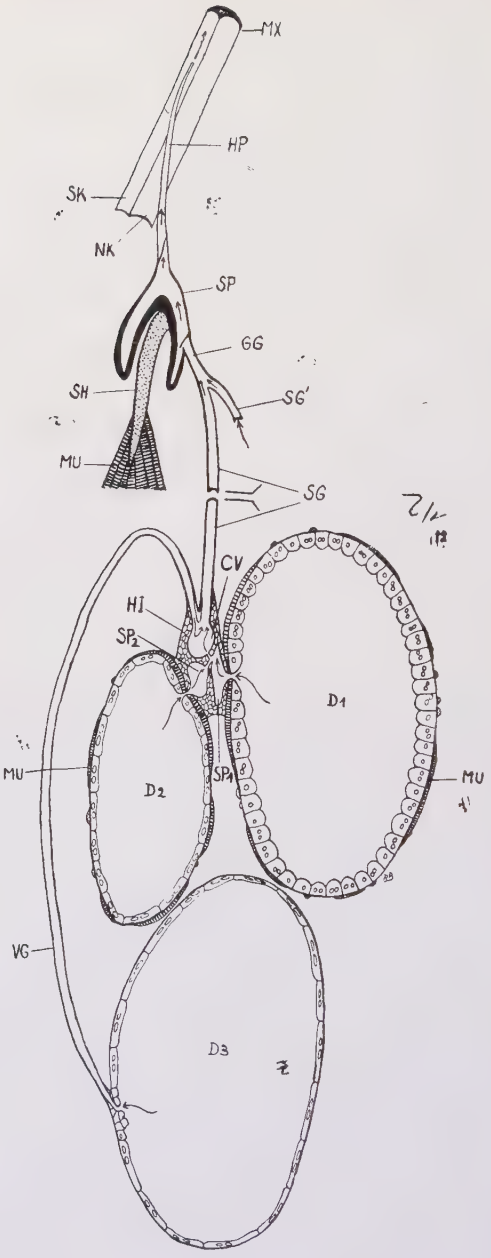


Fig. 4

Fig. 3 — Localização das glândulas salivares no esôfago e proventrículo com canais salivares e bomba salivar.

Fig. 4 — Esquema do corte longitudinal do sistema salivar completo.

Fig. 3 — Lage der Speicheldruesen am Oesophagus und Proventrikel mit Speichelkanaelen und Speichelpumpe.

Fig. 4 — Schemastischer Laengsschnitt durch das gesamte Speichelsystem.

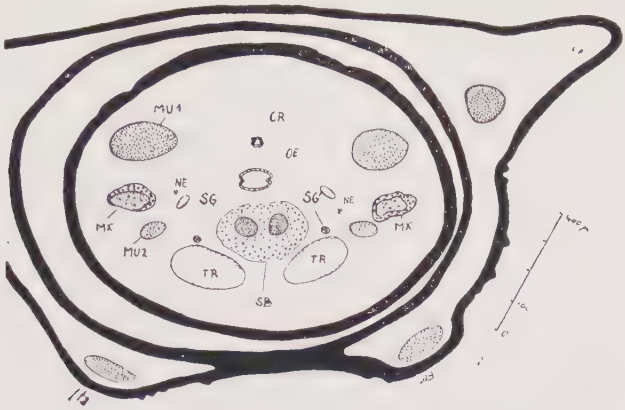


Fig. 5

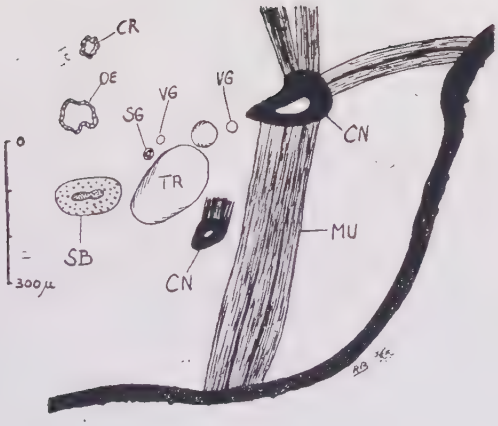


Fig. 6

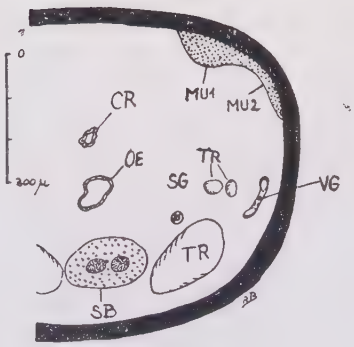


Fig. 7

Fig. 5-7 — Cortes transversais da região cervical.

Fig. 5 na altura do último conectivo do gânglio subesofagial
Fig. 6 na altura da última comissura do gânglio subesofagial
Fig. 7 na altura do segundo conectivo do gânglio subsofagial

Fig. 5-7 — Querschnitte durch die Halsregion:

Fig. 5 in Hoehe des letzten Konnektivs des Unterschlundganglions.
Fig. 6 in Hoehe der letzten Kommissur des Unterschlundganglions.
Fig. 7 in Hoehe des mittleren Konnektivs des Unterschlundganglions.

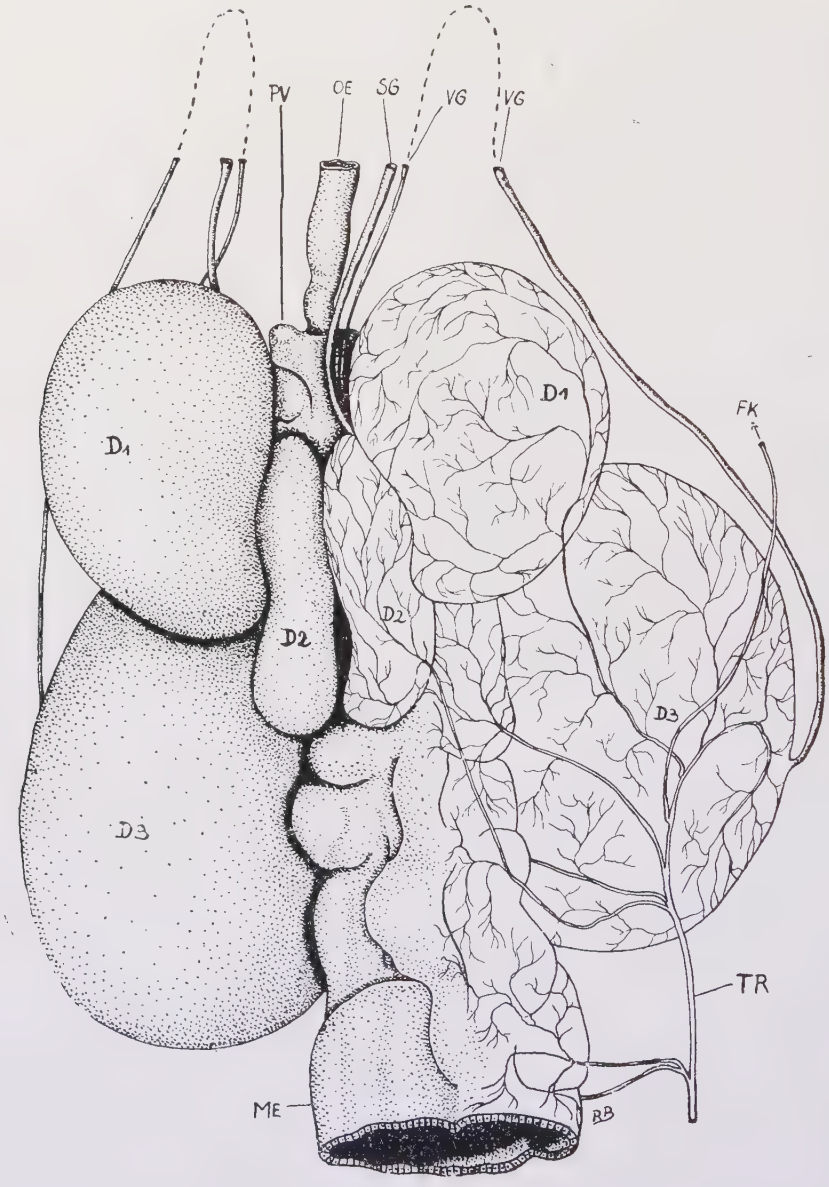


Fig. 8

Fig. 8 — Localização das glândulas salivares no esôfago e proventrículo com as ramificações do ramo da traquéia.

Fig. 8 — Lage der Speicheldruesen am Oesophagus und Proventrikel mit den Verzweigungen des Tracheenastes.

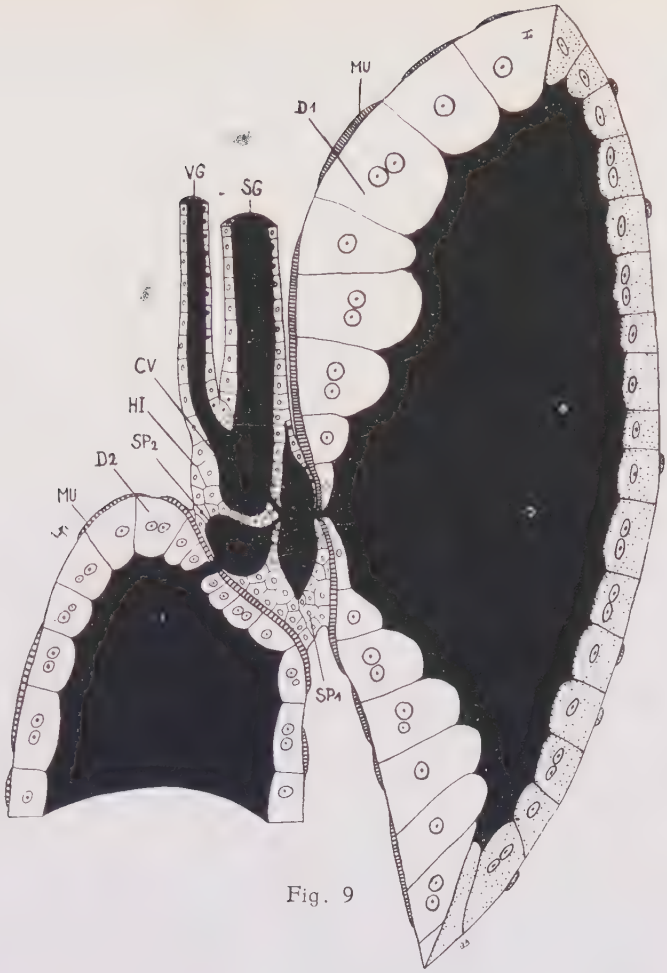


Fig. 9

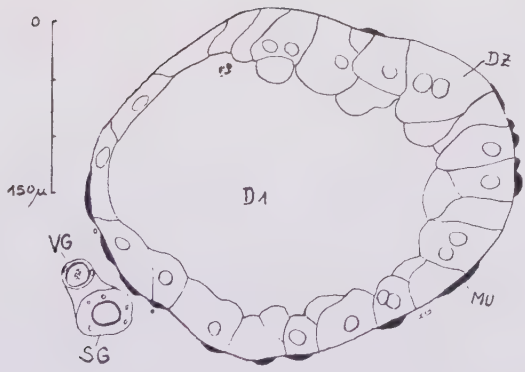


Fig. 10

Fig. 9 — Corte longitudinal do hilo entre D1 e D2.
Fig. 10-21 — Série de cortes longitudinais do hilo. Explicações veja texto.

Fig. 9 — Laengsschnitt durch den Hilus zwischen D1 und D2.
Fig. 10-21 — Querschnittserie durch den Hilus (Erklaerung siehe Text).

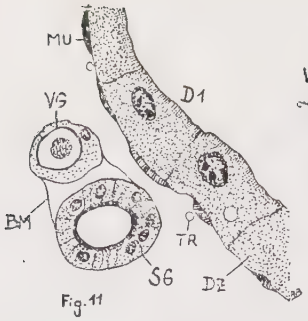


Fig. 11

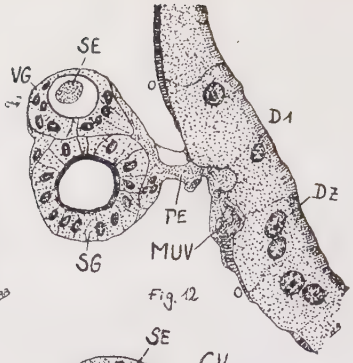


Fig. 12

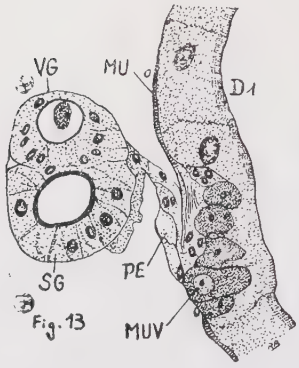


Fig. 13

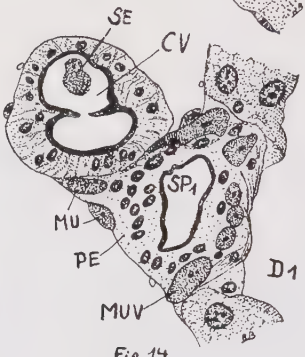


Fig. 14

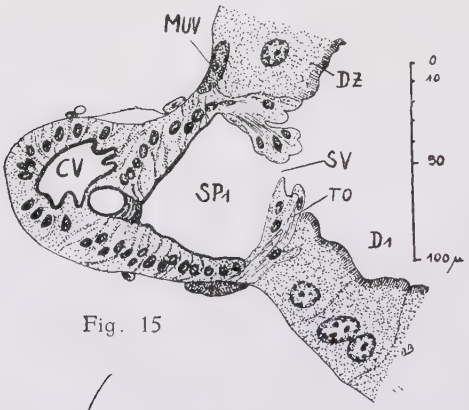


Fig. 15

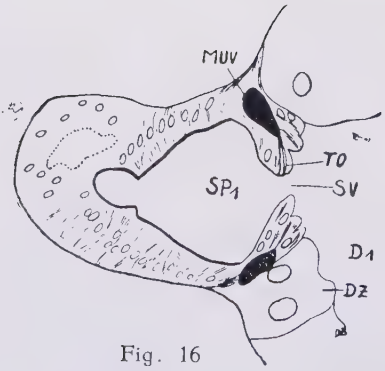


Fig. 16

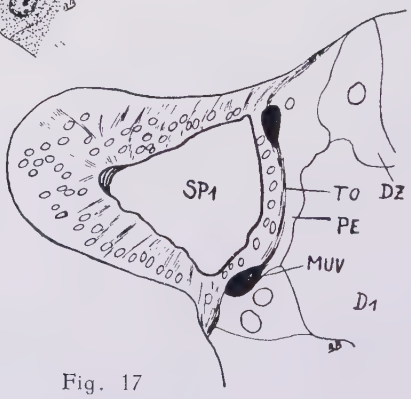


Fig. 17

Figs. 11-17

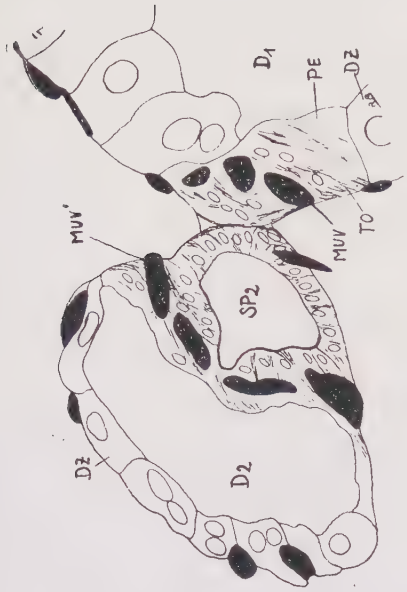


Fig. 20

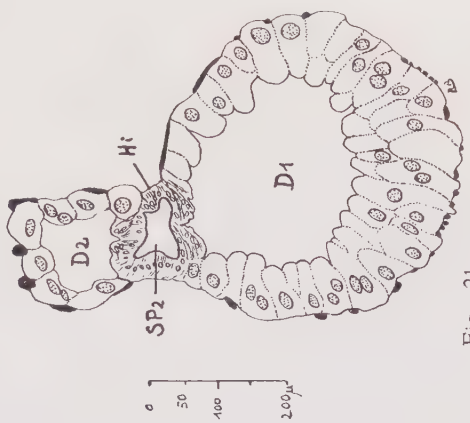


Fig. 21

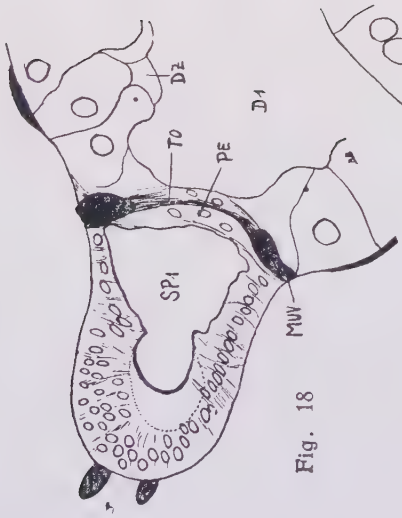


Fig. 18

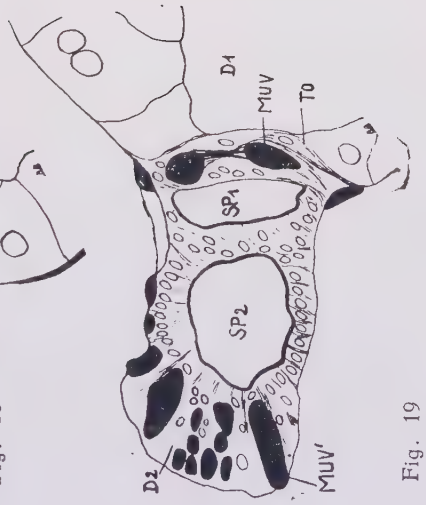


Fig. 19

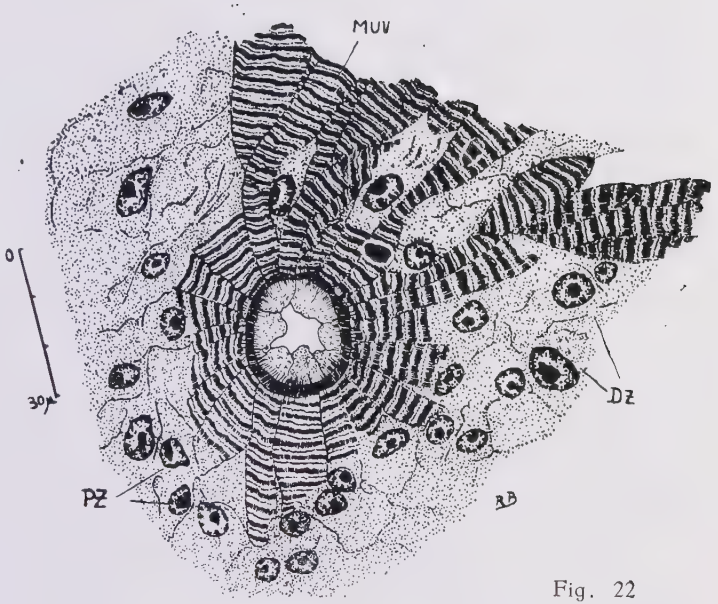


Fig. 22

Fig. 23

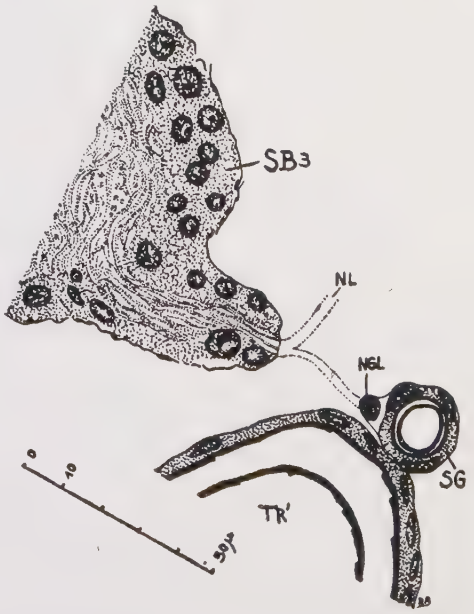


Fig. 24

Fig. 22 — Válvula-estelar entre hilo e D 2.

Fig. 23 — Fios musculares isolados da superfície de D 1.

Fig. 24 — Parte do gânglio subesofagiano com nervo labial e *nervus glandulæ salivaris* encostando-se ao canal salivar principal.

Fig. 22 — Sternventil vom Hilus zur D 2.

Fig. 23 — Isolierte Muskelfasern von der Oberflaeche von D 1.

Fig. 24 — Teil des Suboesophagialganglion mit abzweigendem Labialnerv und *nervus glandulae salivaris,* der sich dem Hauptspeichelgang anlegt.

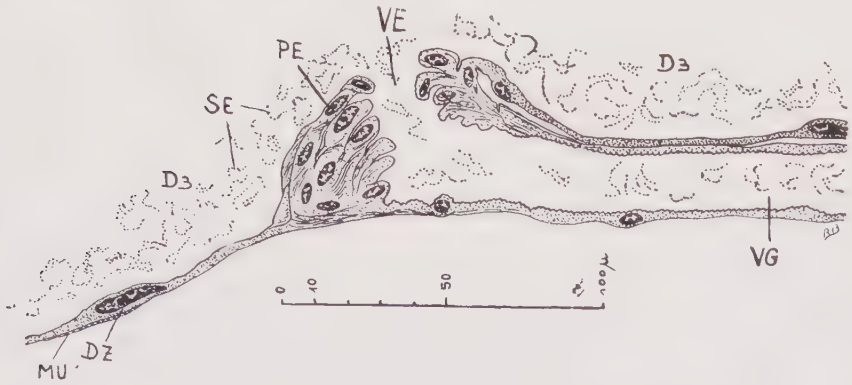


Fig. 25

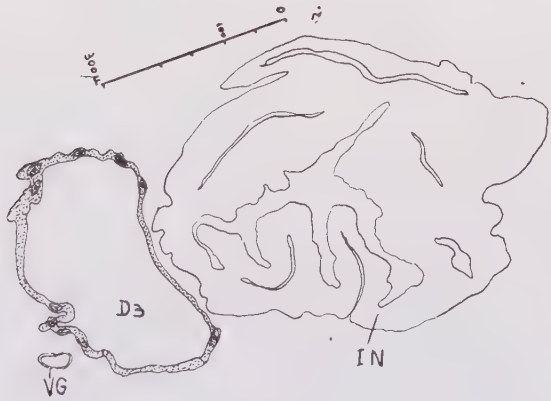


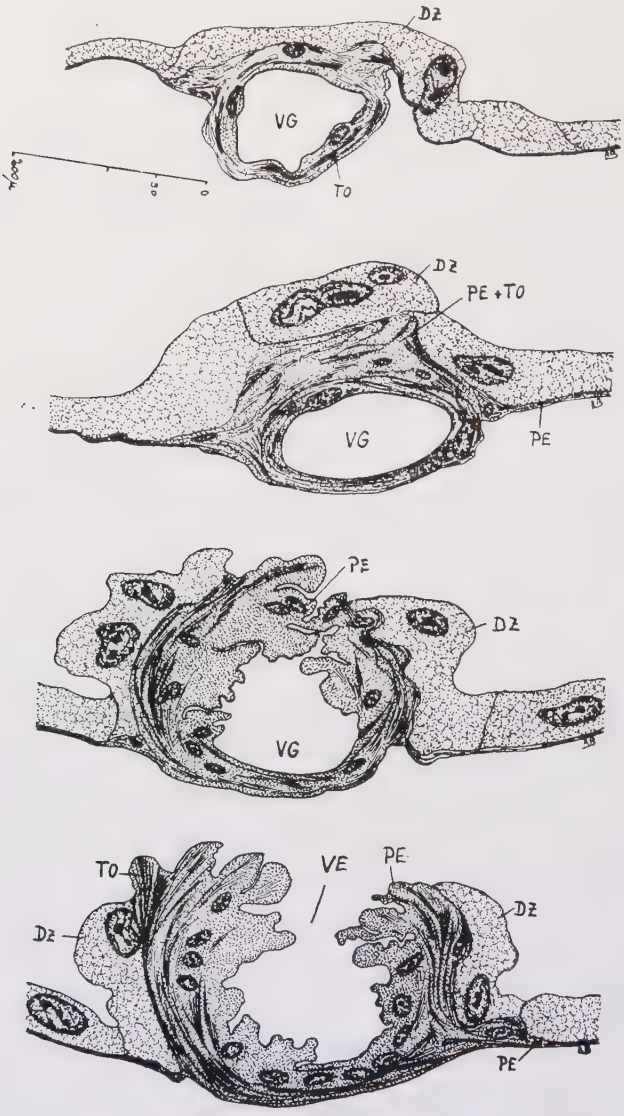
Fig. 26

Fig. 25 — Abertura do canal secundário no lumem de D 3 (válvula).

Fig. 26 — Corte transversal da D 3 com localização do canal secundário pouco antes do desembocamento do mesmo no lumem da glândula.

Fig. 25 — Muendung des Verbindungsganges in das Lumen von D 3 (Ventil).

Fig. 26 — Querschnitt durch D 3 mit Lage des Verbindungsganges kurz vor dessen Muendung in das Druesenlumen.



Figs. 27, 28, 29, 30

Fig. 27-30 — Cortes transversais da válvula da entrada na D 3. Explicações veja texto.

Fig. 27-30 — Querschnitte durch das Ventil am Eingang zur D 3. Erklaerung s. Text.

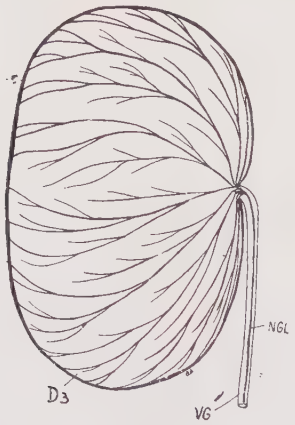
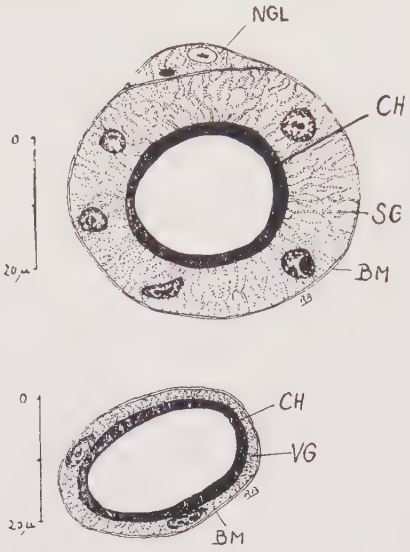


Fig. 31



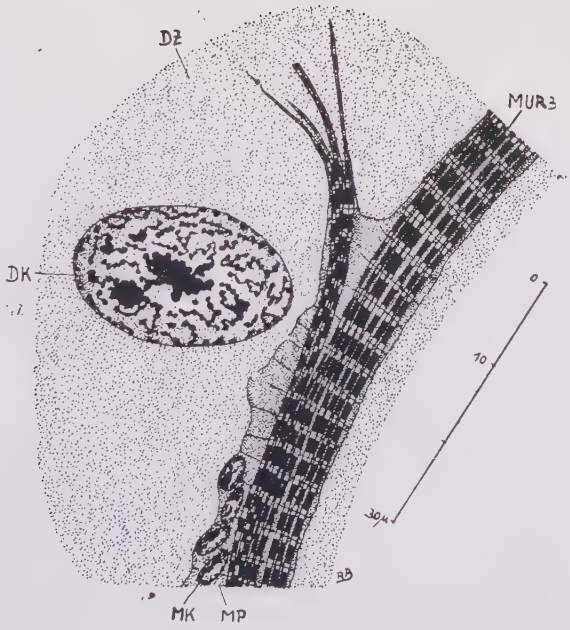
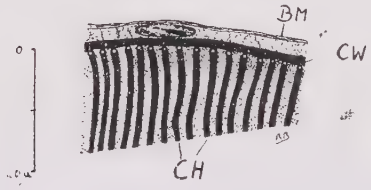


Fig. 32



Figs. 33, 34, 35

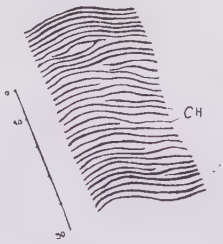


Fig. 36

(Texto vide página seguinte)

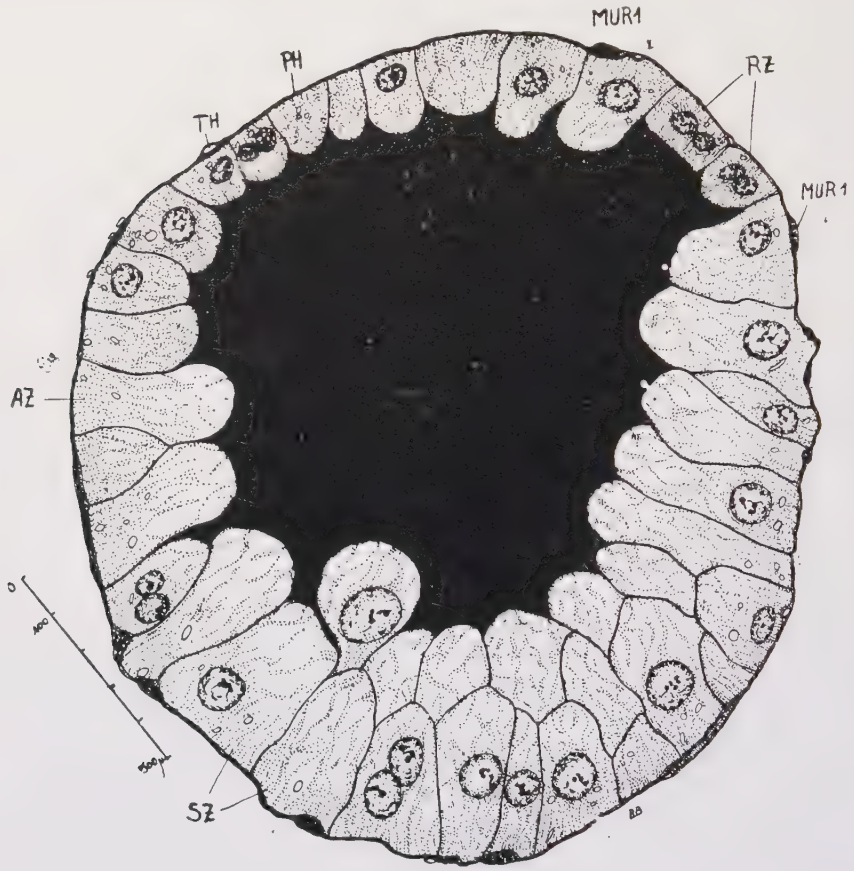


Fig. 37

Fig. 31 — Ramificação do *nervus glandulae salivaris* na superfície de D 3.
Fig. 32 — Parede de D 3, vista de cima, com músculos e com um núcleo glandular.
Fig. 33 — Corte transversal do canal salivar principal com o *nervus glandulae salivaris*.
Fig. 34 — Corte transversal da parte ascendente do canal secundário de D 3 para o hilo.
Fig. 35 — Parte da parede do canal secundário, pouco antes da D 3, lado interior.
Fig. 36 — Sistema dos reforçamentos no canal salivar principal.
Fig. 37 — Corte diagonal da D 1 perto da válvula, 5 minutos depois da sucção.

Fig. 31 — Verzweigung des *nervus glandulae labialis* auf der Oberflaeche von D 3.
Fig. 32 — Flaechenansicht der Wand von D 3 mit Muskeln und einem Druesenkern.
Fig. 33 — Querschnitt durch den Hauptspeichelgang mit dem *nervus glandulae salivaris*.
Fig. 34 — Querschnitt durch den aufsteigenden Teil des Verbingungsganges von D 3 zum Hilus.
Fig. 35 — Teil der Wandung des Verbindungsganges kurz vor D 3 von innen gesehen.
Fig. 36 — Verlauf der Ringversteifungen im Hauptspeichelgang.
Fig. 37 — Diagonalschnitt durch D 1 nahe des Ventils, 5 Minuten nach dem Saugen.

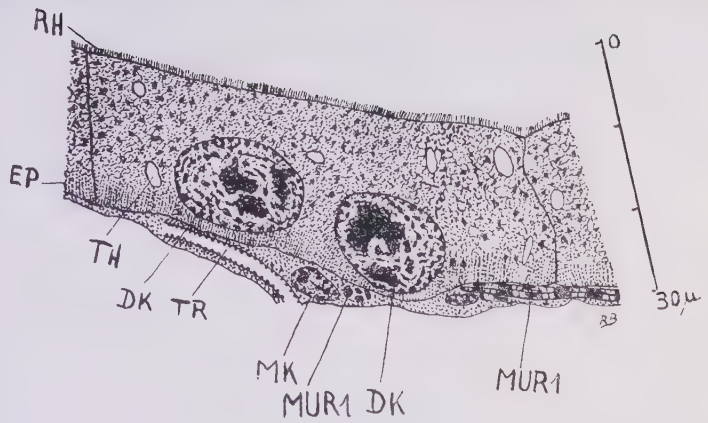


Fig. 38

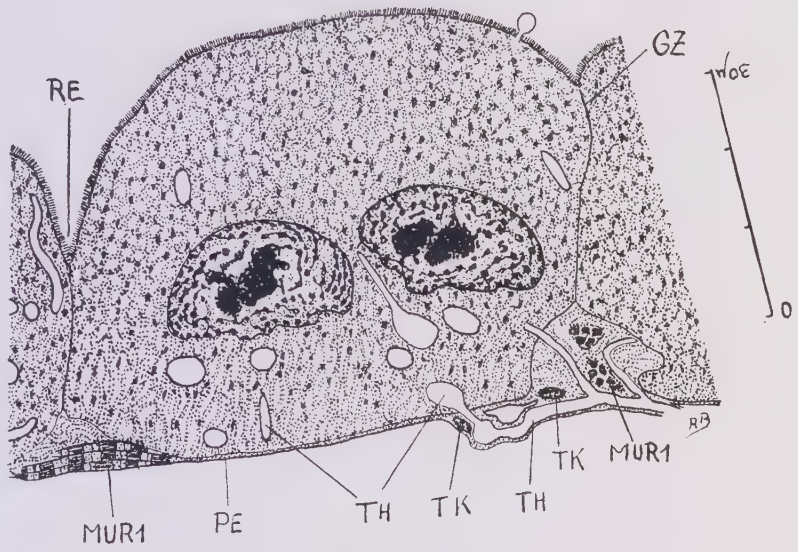


Fig. 39

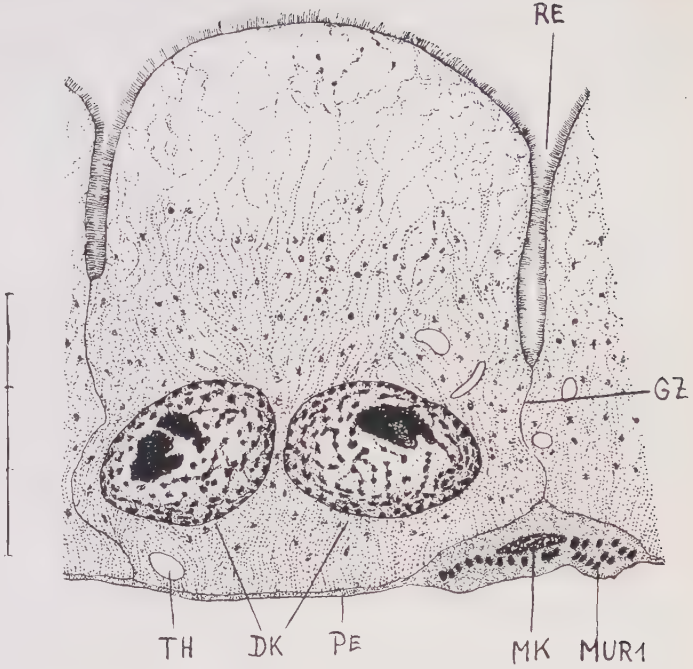


Fig. 40

Fig. 38-41 — Estados de secreção de D 1:
Fig. 38 — Estado de repouso
Fig. 39 — Começo da formação das secreções.
Fig. 40 — Acumulação das secreções na extremidade da célula

Fig. 38-41 — Sekretionsphasen aus D 1:
Fig. 38 — Ruhestadium;
Fig. 39 — Beginnende Sekretbildung;
Fig. 40 — Ansammlung des Sekrets an der Zellspitze.

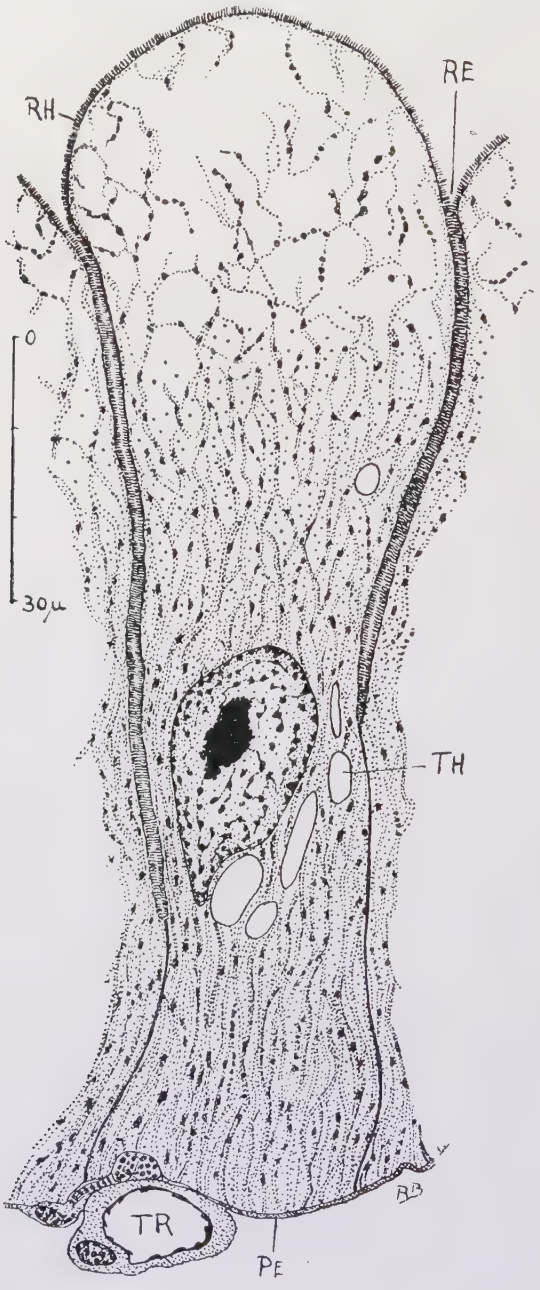


Fig. 41 — Célula imediatamente antes da expulsão das secreções.
Fig. 41 — Zelle unmittelbar vor dem Sekretionsausstoss.

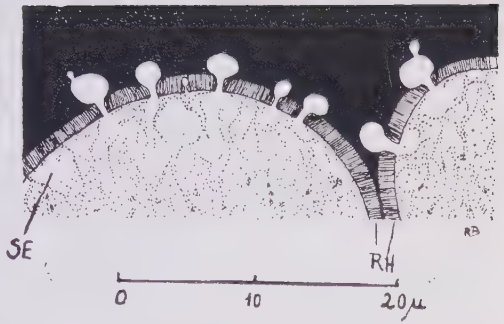


Fig. 42

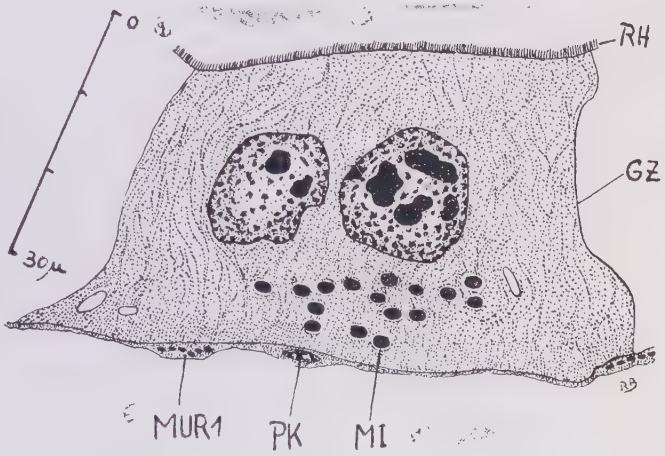


Fig. 43

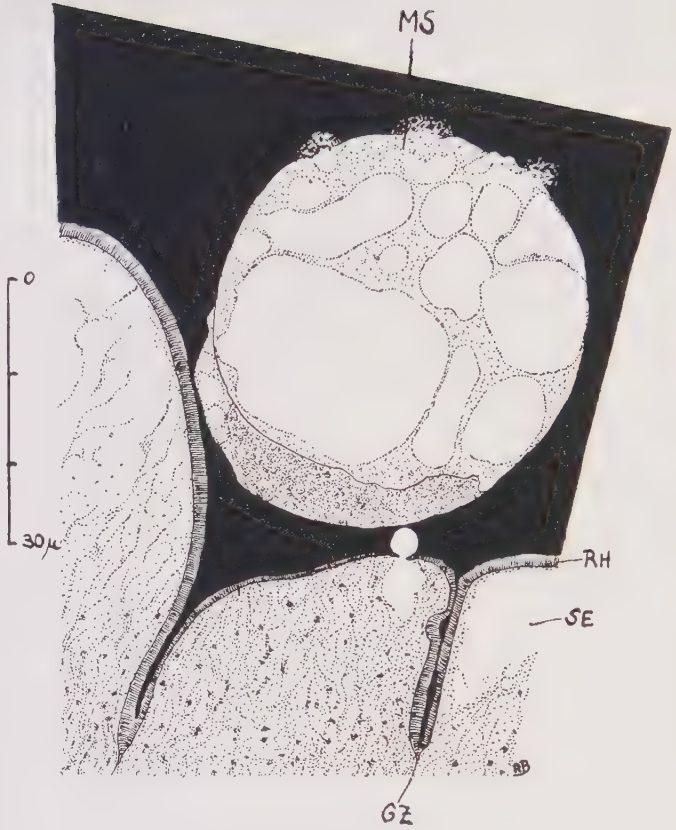


Fig. 44

Fig. 42. — Secreção apócrina em D 1.
Fig. 43 — Secreção merócrina em D 1.
Fig. 44 — Célula de D 1 no primeiro estado da formação das secreções com mitocôndrios.

Fig. 42 — Apokrine Sekretion in D 1.
Fig. 43 — Merokrine Sekretion in D 1.
Fig. 44 — Zelle aus D 1 im ersten Stadium der Sekretbildung mit Mitochondrien.

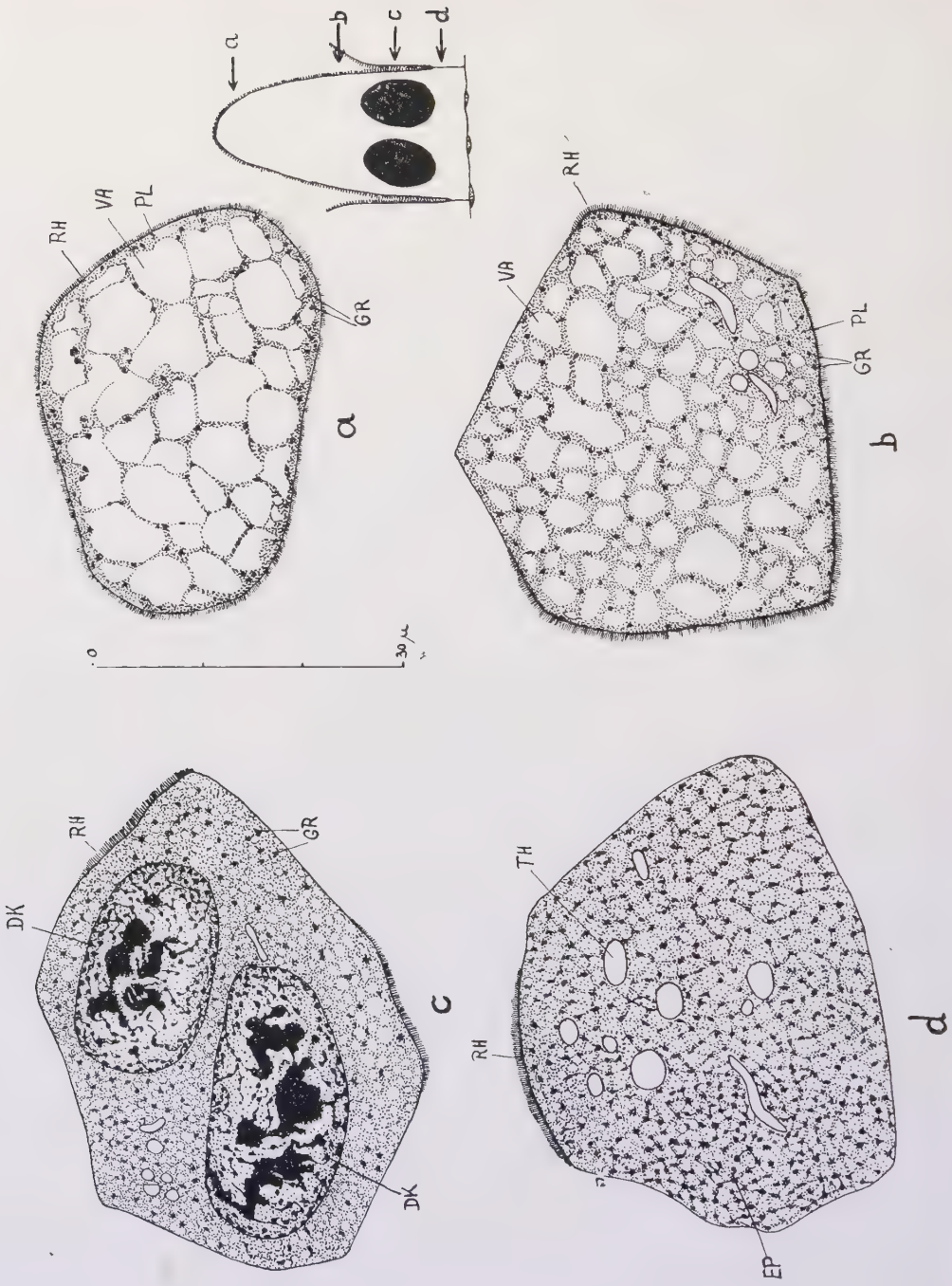


Fig. 45a — d Cortes transversais por uma célula de D 1 na estadio da fig. 41. No esquema ao lado é indicada a altura dos cortes.

Fig. 45a-d — Querschnitte durch eine Zelle aus D 1 im Stadium der Fig. 41. In der seitlichen Skizze ist die Hoehe der Schnitte angegeben.

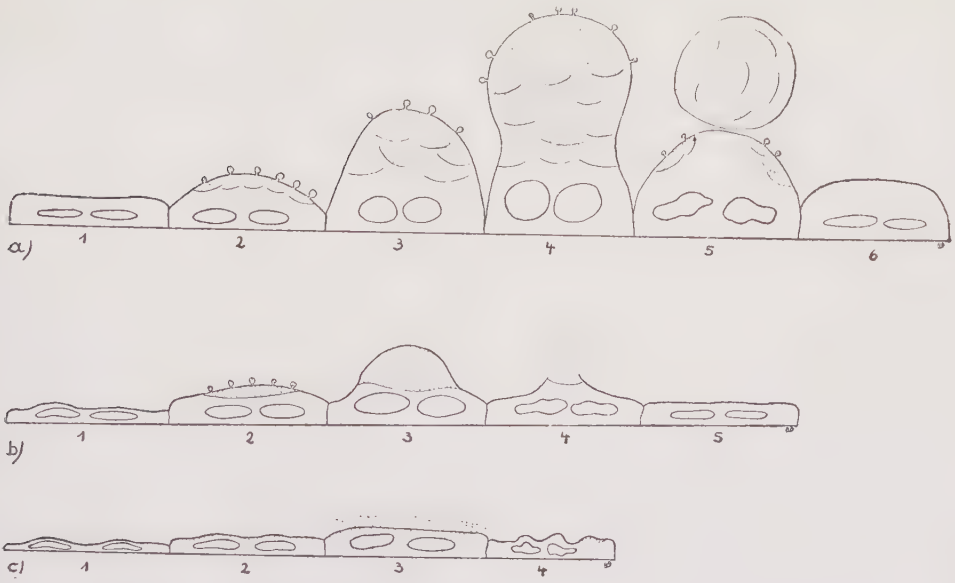


Fig. 46

Fig. 46 a-c — Esquema da formação das secreções: a em D 1, b em D 2, c em D 3. Explicações veja texto.

Fig. 46 a-c — Schema der Sekretionsvorgaenge: a in D1, b in D2, c in D3, (Erklaerung siehe Text).

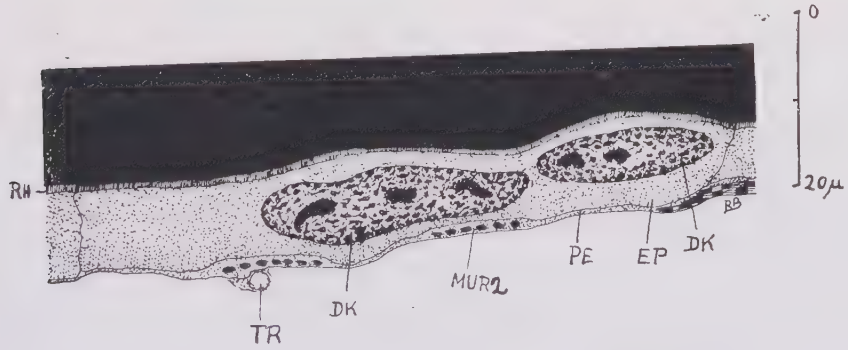


Fig. 47

Fig. 47-50 — Estadios de secreção em D 2:
Fig. 47 — Estado de repouso

Fig. 47-50 — Sekretionsphasen aus D 2:
Fig. 47 — Ruhestadium

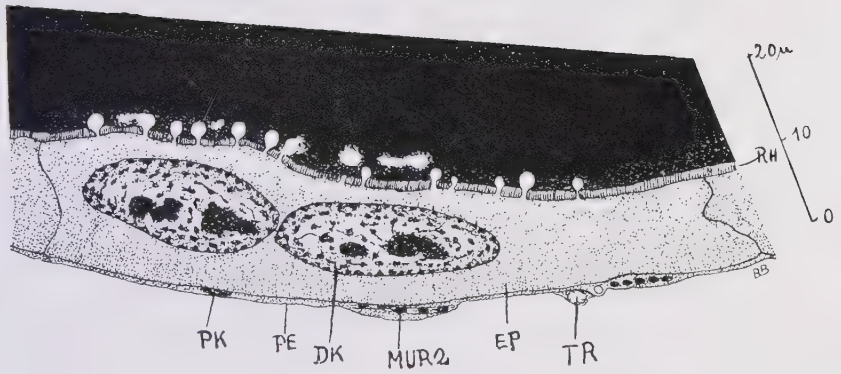


Fig. 48

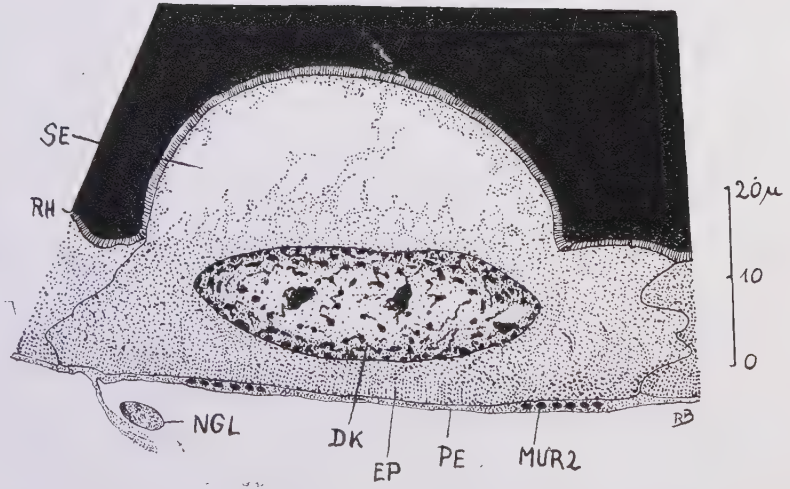


Fig. 49

Fig. 50

Fig. 48 — Começo da acumulação de secreções no pólo apical e secreção apócrina.

Fig. 49 — Forte acumulação de secreções na extremidade apical da célula.

Fig. 50 — Secreção apomerócrina.

Fig. 48 — Beginnende Sekretansammlung am apikalen Pol und apokrine Sekretion.

Fig. 49 — Starke apikale Sekretansammlung.

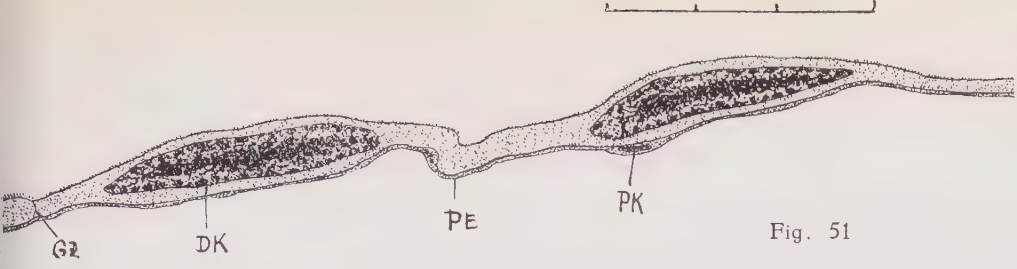


Fig. 51

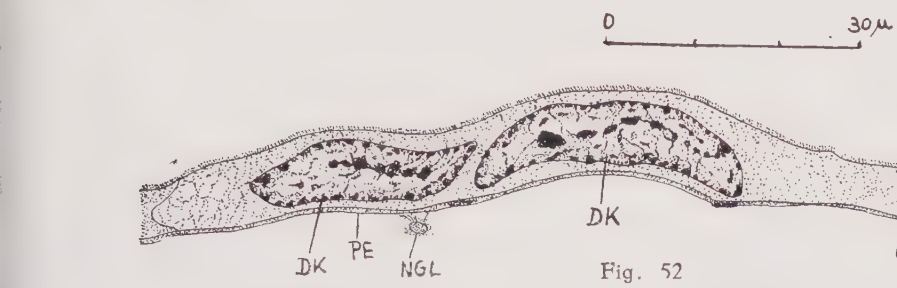


Fig. 52

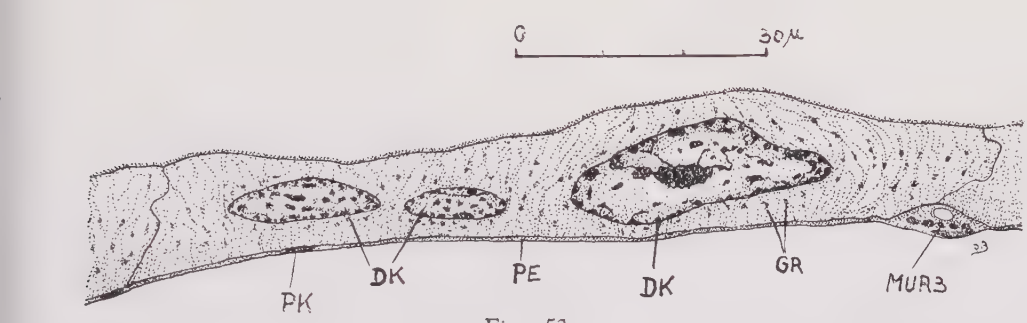


Fig. 53

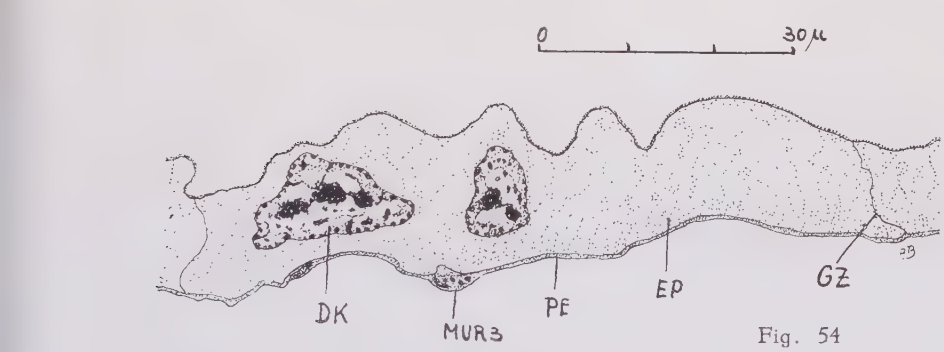


Fig. 54

Fig. 51-54 — Estados de secreção em D 3:

Fig. 51 — Estado de repouso.

Fig. 52 — Começo da formação de secreções.

Fig. 53 — Plena atividade da secreção e transgressão do líquido nuclear para o protoplasma.

Fig. 54 — Fim da expulsão da secreção e transgressão do líquido nuclear para o protoplasma.

Fig. 51-54 — Sekretionsphasen aus D 3:

Fig. 51 — Ruhestadium;

Fig. 52 — Beginnende Sekretbildung;

Fig. 53 — Volle Sekretbildung (der links gelegene Kern ist zweimal angeschnitten).

Fig. 54 — Ende des Sekretionsaustritts und Austritt der Kernfluessigkeit in das Protoplasma.

Contribuição ao Conhecimento do Gênero Sarcophagula Wulp, 1887

(Diptera-Sarcophagidae)

por

H. de Souza Lopes

(Com 45 figuras no texto)

O gênero *Sarcophagula* foi criado em 1887 por F. M. van der Wulp para espécies de pequeno porte (menores que 6 mm.) com as nervuras R_{2+3}, R_{4+5} e M-M retas, incluindo Wulp *Sarcophaga occidua* (Fabricius) e algumas espécies de Thomson e Wiedemann. O tamanho de várias espécies de Thomson (*S. canescens, S. brevispina, S. genalis* e *S. pallicrus*) e de Wiedemann (*S. calida, S. surinamensis, S. terminalis* e *S. amata*) levaram Wulp a incluí-las indevidamente em *Sarcophagula*. A nervura M-M é reta em alguns exemplares mas se apresenta convexa ou sinuosa em outros, não sendo possível considerar o caráter pela sua extraordinária variação. As nervuras do setor radial são, geralmente, mais retas que em outros gêneros de *Sarcophagidae*. Em 1896 Wulp, estudando as espécies mexicanas inclui na diagnose genérica a presença de cerdas fronto-orbitárias nos dois sexos, genitália do macho pouco desenvolvida, genas muito estreitas, caracteres realmente importantes para caracterisar o gênero.

Sarcophagula occidua (Fabricius) foi descrita originàriamente de «America meridionalis insulis» e designada por Coquillet (1910) como tipo do gênero. Aldrich (1916) publicou uma figura da genitália do macho, caracterizando a espécie. Mais tarde, em 1931, êste autor examinou duas fêmeas no Museu de Copenhague que aparentemente não eram os tipos de Fabricius, considerando-as a mesma espécie que descreveu em 1916. Não sendo encontrados os verdadeiros tipos de *S. occidua* (Fabricius) a espécie descrita por Aldrich deve ser considerada o tipo do gênero *Sarcophagula*. Examinei exemplares das Antilhas encontrando duas espécies, uma das quais *S. occidua* (Fabricius), representadas com freqüências aproximadamente semelhantes.

Graças à colaboração do Dr. W. G. Downs pude examinar um bom número de exemplares provenientes do México encontrando três espécies que correspondem às espécies descritas por van der Wulp em 1896: *S. imbecilla, S. canuta* e *S. tenuis*. Êste autor acreditava que apenas *S. imbecilla* possuia cerdas em R_{4+5} e que as outras duas espécies se distinguiam porque a frontália é preta em *canuta* e vermelha em *tenuis*. Tôdas as três espécies têm cerdas na terceira nervura mas *imbecilla* é a única em que Wulp não assinala

cerdas medianas marginais no terceiro tergito abdominal. Tanto a côr da frontália como a presença da cerda mediana marginal do terceiro tergito são caracteres variáveis nos exemplares do México. Entretanto a cerda do 3º tergito abdominal é sempre bem desenvolvida em duas das três espécies e, quando aparece na terceira, é reduzida. Nos machos esta diferença é muito mais nítida que nas fêmeas. Desta maneira isolamos uma espécie que consideramos *S. imbecilla* Wulp, que deve entrar na sinonímia de *S. occidua* (Fabricius), sendo fàcilmente distinta das demais pelo alongamento dos *forcipes inferiores*, já assinalado na figura publicada por Aldrich em 1916. As duas outras espécies, fàcilmente distintas entre si pela genitália do macho, têm a frontália diversamente colorida. Concordando com a descrição de Wulp, uma (*S. canuta*) tem a frontália preta ao passo que a outra (*S. tenuis*) apresenta a frontália anteriormente avermelhada, no material proveniente do México. Consideramos assim as duas espécies de Wulp apesar de que, uma delas (*S. canuta*) se encontra muito distribuída pelo continente americano e, em outras regiões apresenta a frontália ora preta ora avermelhada anteriormente. Não podemos considerar como definitivas as determinações de *S. canuta* Wulp e *S. tenuis* Wulp mas acreditamos haver muita possibilidade em sua exatidão. Até que sejam examinados os tipos de van der Wulp convém considerarmos estas duas espécies com os nomes propostos por êste autor.

Examinamos uma espécie que consideramos nova, próxima de *S. canuta* Wulp, representada por três exemplares provenientes de Guiana Holandêsa, Mato Grosso (Brasil) e Paraguai. Há ainda, na coleção do Instituto Oswaldo Cruz mais uma espécie nova no Rio de Janeiro. Dêste modo admitimos, no material que estudamos, cinco espécies: *S. occidua* (Fabricius), *S. canuta* Wulp, *S. tenuis* Wulp, *S. indonata* sp. n. e *S. macrophthalma* sp. n.

Sarcophagula obsoleta (Wiedemann, 1830), *S. puella* (Williston, 1896) e *S. peruana* Townsend, 1912, devem ser consideradas como espécies atualmente irreconhecíveis até que sejam examinados os respectivos tipos. Aldrich examinou os tipos de *S. sugens* (Wiedemann, 1830), *S. parvula* (Wiedemann, 1830), *S. parva* (Walker, 1852) e *S. despecta* (Thomson, 1868) considerando-os sinônimos de *S. occidua* (Fabricius). Austen (1907) examinou o tipo de *S. parva* (Walker) e o considerou um *Miltogramminatinae*. Como Aldrich só admitia uma espécie em *Sarcophagula* a sinonímia por êle proposta deve ser admitida com reservas. É interessante assinalar que, pela figura de Williston, *Sarcophagula puela* tem as genas mais largas que ¼ do comprimento do olho. Considerando certa a figura de Williston não podemos identificar esta espécie a nenhuma das que estudamos.

Em 1936 admitimos que *P. brasiliensis* Townsend pudesse ser uma espécie do gênero *Sarcophagula* principalmente porque Townsend separa *Pseudosarcophagula* (tipo *S. brasiliensis*) pela presença de longas cerdas erectas na margem do 3º tergito abdominal. Há entretanto outras diferenças importantes como a largura das genas, que talvez indique a existência do gênero *Pseudosarcophagula*. Há na coleção do Instituto Oswaldo Cruz 4 fêmeas provenientes de Salobra, Estado de Mato Grosso, que apresentam as genas com cêrca de ¼ do comprimento do olho. Esta espécie, com cêrca

de 6 mm de comprimento pertence evidentemente a gênero próximo de *Sarcophagula* mas seus caracteres não concordam com as descrições de *Pseudosarcophagula brasiliensis* Towns. Em 1931 Townsend considera *Desvoydiella aurata* Enderlein sinônima de *P. brasiliensis* Towns. Há diferenças muito notáveis entre a descrição de Townsend e a de Enderlein. Entretanto Townsend examinou os tipos de Enderlein.

Gênero Sarcophagula Wulp, 1887

Sarcophagula Wulp, 1887: 173.
Sarcophagula Townsend, 1892: 30.
Sarcophagula Brauer & Bergestamm, 1891: 110.
Sarcophagula Brauer & Bergestamm, 1893: 76 (164).
Sarcophagula Wulp, 1896:289.
Sarcophagula Coquillet, 1910:602.
Sarcophagula Aldrich, 1916:39.
Sarcophagula Townsend, 1917: 190, 192.
Sarcophagula Townsend, 1927: 220.
Sarcophagula Enderlein, 1928: 31.
Sarcophagula Aldrich, 1930: 11.
Sarcophagula Hall, 1933: 262.
Sarcophagula Townsend, 1935: 178.
Sarcophagula Lopes, 1936: 77.
Sarcophagula Townsend, 1937: 213.

Espécie tipo: *Musca occidua* Fabricius, 1794.

Espécies pequenas, habitualmente com 3 a 4 mm de comprimento. Fronte com aproximadamente a mesma largura nos machos e nas fêmeas, com dois pares de cerdas fronto-orbitrárias, o par superior reclinado, o inferior proclinado. Quatro pares de cerdas frontais, o par inferior atingindo cêrca do têrço apical do segundo artículo antenal. Cerdas ocelares muito longas. Cerda vertical externa cêrca de metade do comprimento da vertical interna. Vibrissas situadas logo acima da margem oral. Faciália com cerdas sòmente junto às vibrissas. Arista fortemente engrossada na base, curtamente plumosa na metade basal. Com duas cerdas humerais; três cerdas supralares postsuturais (a anterior e a posterior reduzidas, as vêzes apenas vestigiais); uma forte cerda supralar presutural; duas cerdas intralares postsuturais (a anterior mais longa que a posterior); duas intralares presuturais (a anterior mais longa que a posterior); três cerdas dorsocentrais postsuturais, a posterior muito longa; duas dorso-centrais presuturais; acrosticais não diferenciadas, prescutelar pequena. Há dois pares de cerdas marginais do escutelo, a posterior muito longa; par apical ausente, par preapical constituído por fortes cerdas. Esternopleurais: duas longas posteriormente situadas. Hipopleurais pouco numerosas, três a quatro cerdas, raramente cinco. Pro-

pleura nua. Abdomen com um par de cerdas medianas marginais no quarto tergito e uma série completa de cerdas na margem posterior do quinto. O quinto esternito é largamente fendido posteriormente, os ramos laterais muito divergentes, com pêlos medianos nas margens internas. Segmentos genitais reduzidos; o primeiro tem um a dois pares de cerdas e alguns pêlos dorsais; o segundo um único par de cerdas e pêlos dorsais pouco numerosos. Genitália do macho muito semelhante nas espécies estudadas: nono esternito pequeno, cêrca do comprimento do apódema do penis. Teca não diferenciada, ventrália do penis muito desenvolvida, constituída por duas traves laterais muito quitinosos, com duas apófises distais, a superior arredondada, a inferior de forma variável nas diversas espécies; prepúcio membranoso. Fêmeas com o primeiro tergito genital (6º + 7º) inteiro, 8º representado por um par de placas. Esternitos 6º e 7º unidos por margens quase retas formando um conjunto arredondado, esternito 8º longo e estreito. Quetotaxia das patas muito uniforme. O fêmur médio tem 2 a 3 cerdas medianas na face anterior; duas cerdas preapicais na face posterior; uma cerda preapical na face dorsal e duas séries de cerdas na face ventral: a posterior constituída por longas cerdas basais e a anterior representada por duas cerdas fortes. O fêmur posterior tem na face anterior uma série de cerdas superiores acompanhada por uma série de pequenas cerdas paralelas à primeira e situadas em nível um pouco inferior; uma cerda preapical na face posterior; uma cerda preapical na face dorsal; duas séries de cerdas na face ventral, constituídas de cerdas muito espacejadas, havendo uma cerda muito longa, preapical, na série anterior. A tíbia média tem duas cerdas medianas na face anterior, a inferior muito longa; três cerdas na face posterior, as duas inferiores no mesmo nível; uma cerda preapical na face ventral. A tíbia posterior tem uma série de cerdas na face anterior, sendo duas fortes; duas cerdas na face posterior e uma preapical na face ventral. As asas são hialinas, a primeira nervura radial é núa, R_{4+5} tem cerdas na base; a nervura transversa posterior tem forma muito variável, é reta, sinuosa ou côncava, não fornecendo caracteres para distinção das espécies. A espinha costal é bem desenvolvida nos dois sexos, o terceiro segmento da costal é menor que a metade do comprimento do quinto. Larvas do primeiro estádio com ornamentação no pseudocéfalo. Esqueleto faringiano semelhante aos de *Sarothromyia* e *Oxysarcodexia*. Os estigmas posteriores não estão abrigados em cavidade.

Sarcophagula occidua (Fabricius, 1794) Wulp, 1887

(Figs. 1 a 17)

Musca occidua Fabricius, 1794: 315.
Musca occidua Fabricius, 1805: 288.
Sarcophaga occidua Wiedemann, 1830: 368.
Sarcophaga sugens Wiedemann, 1830 : 367.
Sarcophaga parvula Wiedemann, 1830: 368.
Sarcophaga parva Walker, 1852 : 321.

Sarcophaga despecta Thomson, 1868: 54 (p.p.).
Sarcophaga occidua Wulp, 1883: 37.
Sarcophagula occidua Wulp, 1887: 174.
Sarcophagula imbecilla Wulp, 1896: 289.
Sarcophagula occidua Townsend, 1892: 30.
Sarcophagula occidua Coquillet, 1900: 254.
Sarcophaga parva Austen, 1907: 335.
Sarcophagula occidua Aldrich, 1916 : 40, pl. 1, figs. 9, 9a., 9b.
Sarcophagula occidua Aldrich, 1930: 2.
Sarcophagula sugens Aldrich, 1930: 12.
Sarcophagula parvula Aldrich, 1930 : 12.
Sarcophagula parva Aldrich, 1930: 17.
Sarcophagula despecta Aldrich, 1930: 29.
Sarcophagula occidua Engel, 1931: 140, fig. 5.
Sarcophagula occidua Hall, 1933: 262.
Sarcophagula occidua Curran, 1934 : 478.
Sarcophagula occidua Lopes, 1936: 79.
Sarcophagula occidua Lopes, 1948: 562.

Macho, comprimento total: 3 a 4 mm.

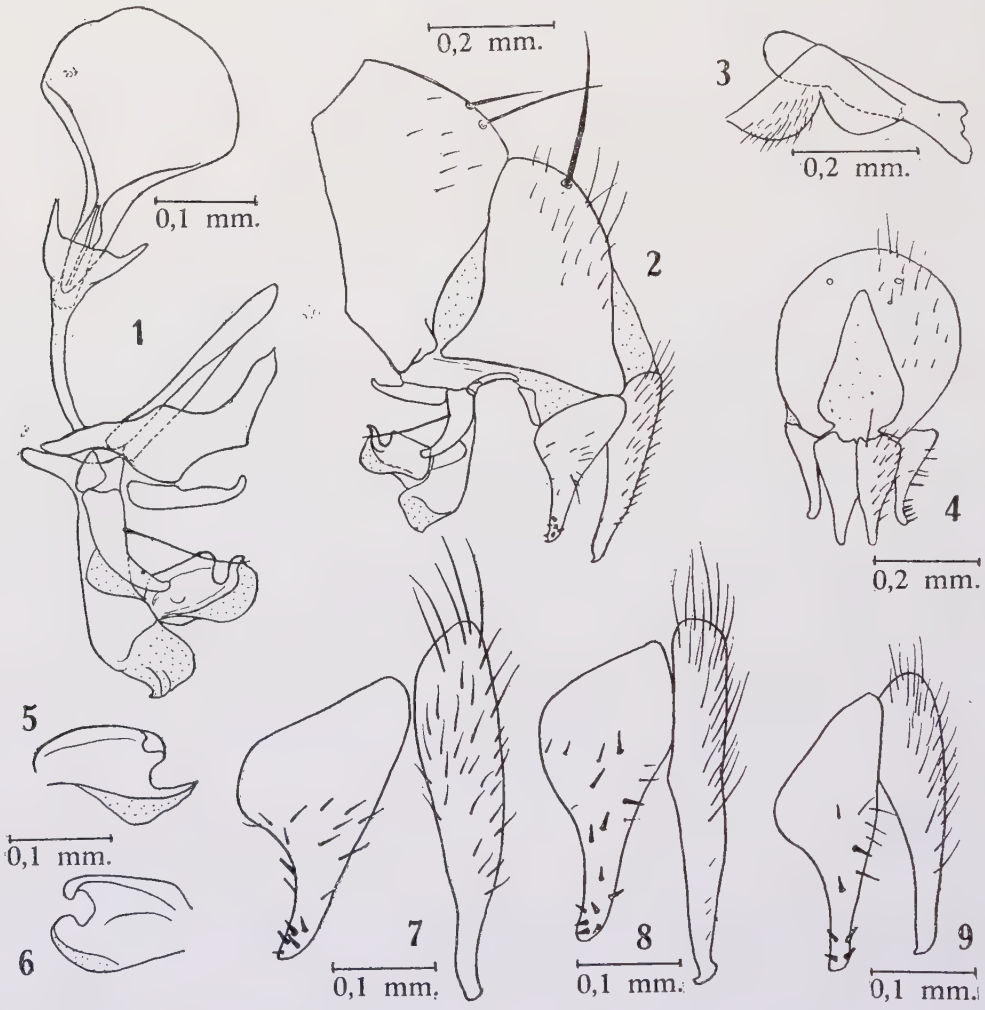
Fronte com 0,33 a 0,37 da largura da cabeça. Frontália vermelha, superiormente enegrecida em extensão muito variável, as vêzes inteiramente vermelha. Parafaciália com uma série de pêlos, algumas vêzes muito reduzidos. Parafrontália com raros pêlos. Das quatro cerdas frontais, a primeira e a última são menores que as duas cerdas intermediárias. Antenas cinzentas segundo artículo com o ápice avermelhado; as antenas atingem de 0,8 a 0,91 da distância entre a base e o nível das grandes vibrissas. Genas com 0,14 a 0,19 do maior diâmetro do olho. Parte posterior da cabeça com poucos pêlos pretos em uma ou duas séries, além dos cílios postoculares. Genas com poucos pêlos, todos pretos.

Tórax cinzento, faixas longitudinais pouco nítidas. Terceiro tergito abdominal com um par de cerdas medianas marginais muito pouco desenvolvidas, as vêzes apenas diferenciadas dos pêlos de revestimento, raramente eretas. Esternitos abdominais I a IV com pêlos pretos muito numerosos, um pouco mais longos nas margens posteriores. *Forcipes superiores* fracamente curvos para diante, extremidade distal aguda. Há em alguns casos variações mais ou menos acentuadas, podendo ser a extremidade um pouco engrossada. Em um exemplar encontramos os *forcipes superiores* dirigidos para trás. *Forcipes inferiores* longos, cêrca do comprimento dos *f. superiores,* estreitados na metade apical, com espinhos fortes. Ventrália do penis com a apófise inferior freqüentemente pontuda e sinuosa, algumas vêzes arredondada. Segmentos da nervura costal na seguinte proporção: II: 31, III: 9, IV: 51, V: 20, VI: 2.

Distribuição geográfica: America meridionalis insulis (Fabricius), Westindies, Brasil (Wiedemann), Panamá (Thomson), Argentina, México

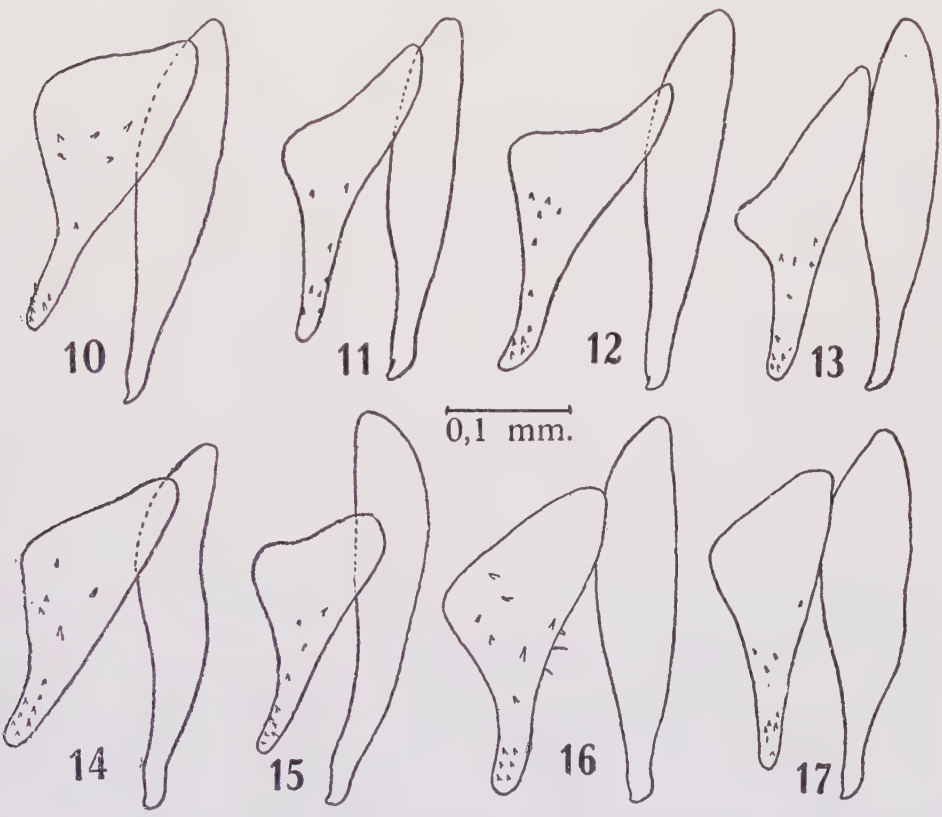
(Wulp), Porto Rico (Coquillet), Cuba, Flórida, Jamaica (Aldrich), B. Guiana (Curran), Bolívia (Engel).

Material examinado: USA: 1 ♂ Browsville, Texas, 2 a 13.I.1928. Jamaica: 2 ♂♂ Montego Bay Point St. James, 28.XII.1919; 1 ♂ Dunrobin Dist., Mondeville, Manch. 17 a 23.I.1920 (cêrca de 2.350 pés). Dominica: 2 ♂♂ e 1 ♀ Sanchez, 17 a 21.V.1915, 28 a 31.V.1915,



Sarcophagula occidua (Fabricius, 1794) — Fig. 1: Penis e pinças internas, vista lateral; fig. 2: genitália do macho, vista lateral; fig. 3: quinto esternito do macho; fig. 4: genitália do macho, vista dorsal; fig. 5: ventrália do penis; fig. 6: ventrália do penis; fig. 7: pinças externas, exemplar do Rio de Janeiro (n.º 8.358); fig. 8; pinças externas, exemplar de Itaguaí (nº 8.343); fig. 9: pinças externas, exemplar de Campinas, Goiás (nº 8.337).

7 a 12.VI.1915. Cuba: 1 ♂ Guane, 24 a 26.IX.1913. México: W. G. Downs leg.: 4 ♂♂ Tepozlan, Mor. 28.IV.1948; 2 ♂♂ Cuernavaca, Mor. 17.VIII.1948; 2 ♂♂ Todos os Santos Bay, Baja Califórnia 5.VII.1948; 1 ♂ Arcelia, Guerrero, 21.X.1947; 1 ♂ Carrizal, Gro. 26.IX.1950; 1 ♂ Cola de Caballo, Vila de Santiago, 24.IX.1947. Honduras: Trujillo, J. Bird, 2 ♂♂. Panamá: 1 ♂ David, 8.VI.1943, F. M.



Sarcophagula occidua (Fabricius, 1794) — Fig. 10: pinças externas, exemplar de Governador Valadares (nº 8.332); fig. 11: idem, exemplar de Assunção (nº 8.316); fig. 12: idem, exemplar de Governador Valadares (nº 8.331); fig. 13: idem, exemplar de Campinas, Goiás (nº 8.338); fig. 14: idem, exemplar do Nordeste do Brasil (nº 8.322); fig. 15: idem, exemplar de Goiânia (n.º 8.347); fig. 16: idem, exemplar de Assunção (nº 8.371); fig. 17: idem, exemplar de Salobra (nº 8.339).

Snyder. Canal Zone: 8 ♂♂ Patila Pt., 1.II.1929, C. H. Curran; 4 ♂♂ e 2 ♀♀ Chivachiva Trail, 18.XI.1923. Colombia: 1 ♂ Turbo, 2.VI.1943, F. M. Snyder; 1 ♂ Hormiguero, Cauca Valley (3.260 pés). Venezuela: 2 ♂♂ Caracas, setembro. Guiana Inglesa: 1 ♂ Georgetown, 4.VII.1911; 1 ♂ Georgetown, W. Beveridge, 1930. Bolívia: 4 ♂♂ e 9 ♀♀ Buena

Vista, I.1927. Brasil: Amazonas: 1 ♂ Rio Purus, Roman; 1 ♂ Umarituba, Rio Negro, Roman, 28.IV. Pará: 2 ♂ ♂ Cachoeira da Paciência, Rio Cuminá, 28.X.1936, R. F. d'Almeida. Maranhão: Ribamar, São Luís, S. Fiquene, I.1935, 1 ♂. Ceará: Timbaúvas, IV a V.1940, O. Mangabeira F., 1 ♂. Estado do Rio de Janeiro: 1 ♂ Itaguaí, 23.III.1943, P. Wygodzinsky. Rio de Janeiro: 3 ♂ ♂ Gavea, V.1936; 3 ♂ ♂ Tijuca, Freitas e Lopes. 8.VI.1939; 1 ♂ Botafogo, XII.1938, Heraldo Travassos. S. Paulo: Ipiranga, Capital, F. Lange de Morretes, 1 ♂, 7.III.1936. Minas Gerais: 2 ♂ ♂ Governador Valadares, S. J. de Oliveira; 1 ♂ Camanducaia (1.600 m) VI.1931; 2 ♂ ♂ Serra do Cabral, VII.1933, J. N. Penido. Goiás: 4 ♂ ♂ Campinas, I.1936. Borgmeier e Lopes; 2 ♂ ♂ Goiânia, Freitas e Nobre. Mato Grosso: 1 ♂ Bodoquena, Com.I.O.C., XI.1941; 1 ♂ Salobra, Com. I. O. C. VII.1939; 2 ♂ ♂ Salobra, Com. I. O. C. I.1941, Paraguai: 5 ♂ ♂ Assuncion, Miss. Cient. Bras. X.1944; 1 ♂ Puerto Gal. Diaz. Mis. Cient. Bras. III.1944. Argentina: 1 ♂ Villa del Parque, Buenos Aires, 13.VIII. 1937, A. Ogloblin. Chile: Iquique, 6.IX.1951 P. G. Kuschel, 2 ♂ ♂.

Sarcophagula canuta Wulp, 1896

(Figs. 18 a 29)

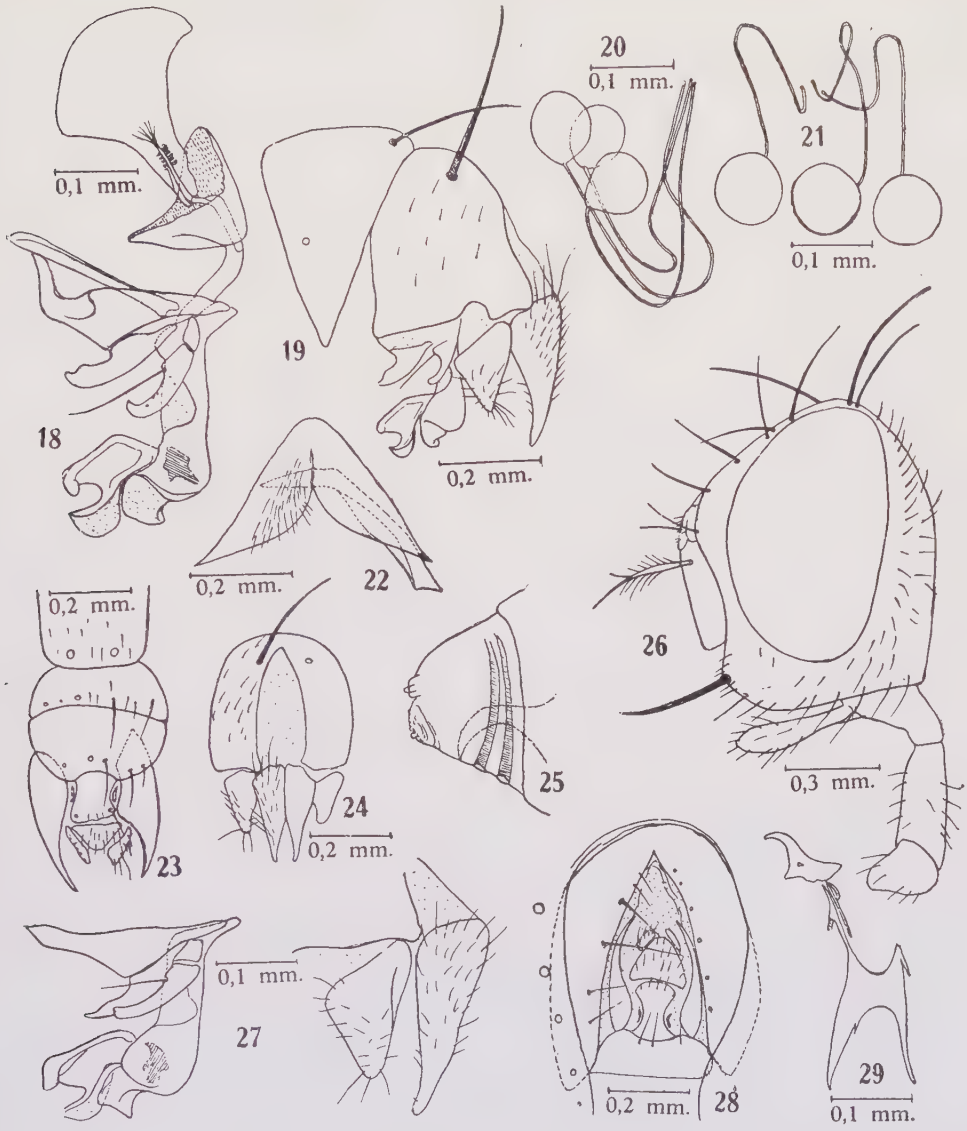
Sarcophagula canuta Wulp, 1896: 289, pl. 8, fig. 12.

Macho: Comprimento total: 3 a 4 mm.

Cabeça cinzenta, prateada. Fronte com 0,34 a 0,43 da largura da cabeça. Frontália freqüentemente preta, as vêzes avermelhada anteriormente. Parafaciália com uma série de cerdas junto às orbitas oculares. Parafrontália com alguns pelinhos. Antenas cinzentas, ápice do segundo artículo avermelhado; as antenas atingem de 0,90 a 0,91 da distância entre a base e o nível das grandes vibrissas. Genas com poucos pêlos, todos pretos, medindo de 0,10 a 0,20 do maior diâmetro do olho. Parte posterior da cabeça com duas séries de cerdas pretas, espacejadas além dos cílios postoculares.

Tórax cinzento, faixas longitudinais pouco nítidas. Terceiro tergito abdominal com um par de cerdas medianas marginais geralmente longas e erectas. Esternitos abdominais I a IV com pêlos pretos muito numerosos, mais longos nas margens posteriores. *Forcipes superiores* fracamente curvos, extremidade distal mais ou menos apontada. *Forcipes inferiores* triangulares; apófise inferior da ventrália do penis com o ápice longo e estreitado. Segmentos da nervura costal na seguinte proporção: II: 30, III: 9, IV: 60, V: 19, VI: 3.

Fêmea: difere do macho por poucos caracteres sexuais secundários. Terceiro tergito abdominal com as cerdas medianas marginais menos desenvolvidas que nos machos. Primeiro tergito genital (6º + 7º abdominais) inteiro, volumoso, com cerdas na margem posterior, 8º tergito abdominal representado por um par de largas placas, sem pêlos. Esternitos 6º e 7º bem desenvolvidos, a margem posterior do 6º e a margem anterior do 7º



Sarcophagula canuta Wulp, 1896 — Fig. 18: penis e pinças internas; fig. 19: genitália do macho; fig. 20: espermatecas; fig. 21: idem; fig. 22: quinto esternito do macho; fig. 23: genitália da fêmea; fig. 24: genitália do macho; fig. 25: pseudocéfalo da larva do primeiro estádio; fig. 26: cabeça do macho; fig. 27: genitália do macho, exemplar de Assunção (nº 8.311); fig. 28: genitália da fêmea; fig. 29: esqueleto céfalo-faringeano da larva I.

quase em linha reta; os dois escleritos formam uma figura aproximadamente circular. Esternito 8º longo e estreito encaixado pròximamente na margem do 7º. Espermatecas quase esféricas, condutos estreitos em tôda a extensão.

Larvas do 1º estádio com duas formações transversais em goteira que se dirigem para o átrio bucal; esclerito dentado unido ao labial, infrahipostomal bem individualizado, delgado; hipostomal longo e delgado, subhipostomal bem visível lateralmente. Os ganchos bucais têm forma e disposição semelhante aos encontrados nas larvas de primeiro estádio de *Oxysarcodexia* e *Sarothromyia* e a ornamentação do pseudocéfalo é parecida com a encontrada em *Sarothromyia femoralis* (Shiner, 1868).

Distribuição Geográfica: México.

Material examinado: México: W. G. Downs: Colla de Caballo, Vila de Santiago, 1 ♂; 1 ♂ de Cuernavaca, Mor. 17.VIII.1947; 2 ♂♂ México D.F., 27.IV.1947; 2 ♂♂ Nautla, Ver. 21.VIII.1947; A. Dampf: 1 ♂ Guanojuato, VII.1930. Jamaica: 6 ♂♂ e 2 ♀♀, Mandeville, Manch. Dunrobin Dist. 17 a 23.I.1920 (2.350 pés). Dominica: 1 ♀ San Lorenzo, 24 a 26.VI.1915; 2 ♂♂ e 2 ♀♀ Sanchez, 7 a 12.VI.1915; 1 ♂ Villa Rivas, 19 a 22.VI.1915. Cuba: 1 ♂ Guane, 24 a 26.IX.1913; 1 ♂ Pinar del Rio, 9.IX.1915; 1 ♂ e 1 ♀ Aguada Pas. II.1915. Honduras: 1 ♂ La ceiba, 13.X.1916, F. J. Dyer; 1 ♂ Tegucicalpa, 28.XI.1918, F. J. Dyer. Colômbia: 1 ♂ 1 ♀ Cali District, Cauca Walley (3.260 pés), Herbert P. Schwarz; 4 ♂♂ e 2 ♀♀ Cali district, Western Cordillera (4.400 pés H. P. Schwarz; 3 ♂♂ e 1 ♀ Hormiguero, Cauca Walley (3.260 pés), H. P. Schwarz. Guiana Inglesa: 1 ♂ Potaro Ldg. Ecuador: 7 ♂♂ 7 ♀♀ Baños, F. M. Brown, 20.XI.1938; 3 ♀♀ Rio Bamba, Chimborazo (2.700 mts.) 20.IV.1939, F. M. Brown. Brasil: Amazonas; 1 ♂ Rio Purus, Roman; Rio Grande do Norte: 3 ♂♂ 3 ♀♀ Natal, 8.V.1943, F. M. Snyder; Estado do Rio de Janeiro: 2 ♂♂ Vassouras, I.1940, D. Machado. Rio de Janeiro: 1 ♂ Recreio dos Bandeirantes, 2.XI.1936; 1 ♂ Guaratiba, 12.I.1941; 1 ♂ Grajaú, 20.IX.1939; 6 ♂♂ Gávea, 24.V.1936; 10 ♂♂ e 8 ♀♀, Manguinhos (cultura n.º 359). São Paulo: 1 ♂ Ipiranga, 29.II.1936, F. L. de Morretes; 1 ♂ 1 ♀ S. Paulo (Capital), Lauro Travassos Filho (Cult. nº 217); 3 ♂♂ São José dos Campos, VI.1932. Minas Gerais: e 1 ♂ Governador Valadares, S. J. Oliveira. Mato Grosso: 3 ♂♂ Salobra, VII.1939, Com. I.O.C. Paraguai: 1 ♂ Isla Valle, V.1944, Mis. Cient. Brasil.; 4 ♂♂ Assuncion, X.1944, Mis. Cient. Brasil.

Sarcophagula tenuis Wulp, 1896

(Figs. 30 a 35)

Sarcophagula tenuis Wulp, 1896: 289.

Macho — comprimento total: 2 a 4 mm. Cabeça cinzenta prateada. Fronte com cêrca de 0,41 da largura da cabeça. Frontália preta, anteriormente avermelhada. Parafaciália com pelinhos em série; parafrontália com alguns pêlos esparsos. Antenas cinzentas, margem distal do 2º artículo as

vêzes, avermelhada. O ápice das antenas atinge os 0,9 da distância entre a base e o nível das grandes vibrissas. Parte posterior da cabeça com duas séries de pêlos pretos, esparsos, os demais pêlos são claros e estão situados abaixo do pescoço. Genas com raros pêlos todos pretos, com cêrca de 0.2 do maior diâmetro do olho.

Tórax cinzento, faixas longitudinais pouco nítidas. Terceiro tergito abdominal geralmente com cerdas longas e erectas. Esternitos abdominais com pêlos pretos muito numerosos, mais longos nas margens posteriores. *Forcipes superiores*, estreitos, sinuosos, muito longos; *forcipes inferiores* aproximadamente triangulares; ventrália do penis com a apófise inferior curva e alongada onde há uma série de pequenos dentes quitinosos (fig. 31). As figuras 30 a 32 foram baseadas em um exemplar anômalo que apresenta a apófise inferior da ventrália dirigida para baixo. As cerdas das patas são mais robustas que as de *S. canuta* Wulp. Segmentos da nervura costal na seguinte proporção: II: 34, III: 8, IV: 58, V: 25, VI: 2.

Distribuição geográfica: México.

Material examinado: México: W. G. Downs : Xochimilca. D. G. 17.V.1947 1 ♂ ; 3 ♂♂ México D.F., 27.IV.1947, 2.V.1948, 16.X.1950; 1 ♂ Acatlipa, Morelos. A. Dampf: 3 ♂♂ México D.F. 1941; 2 ♂♂ Chimalhuacan, 21.X.1933; 1 ♂ Chapultepec 1941.

Sarcophagula indonata sp. n.

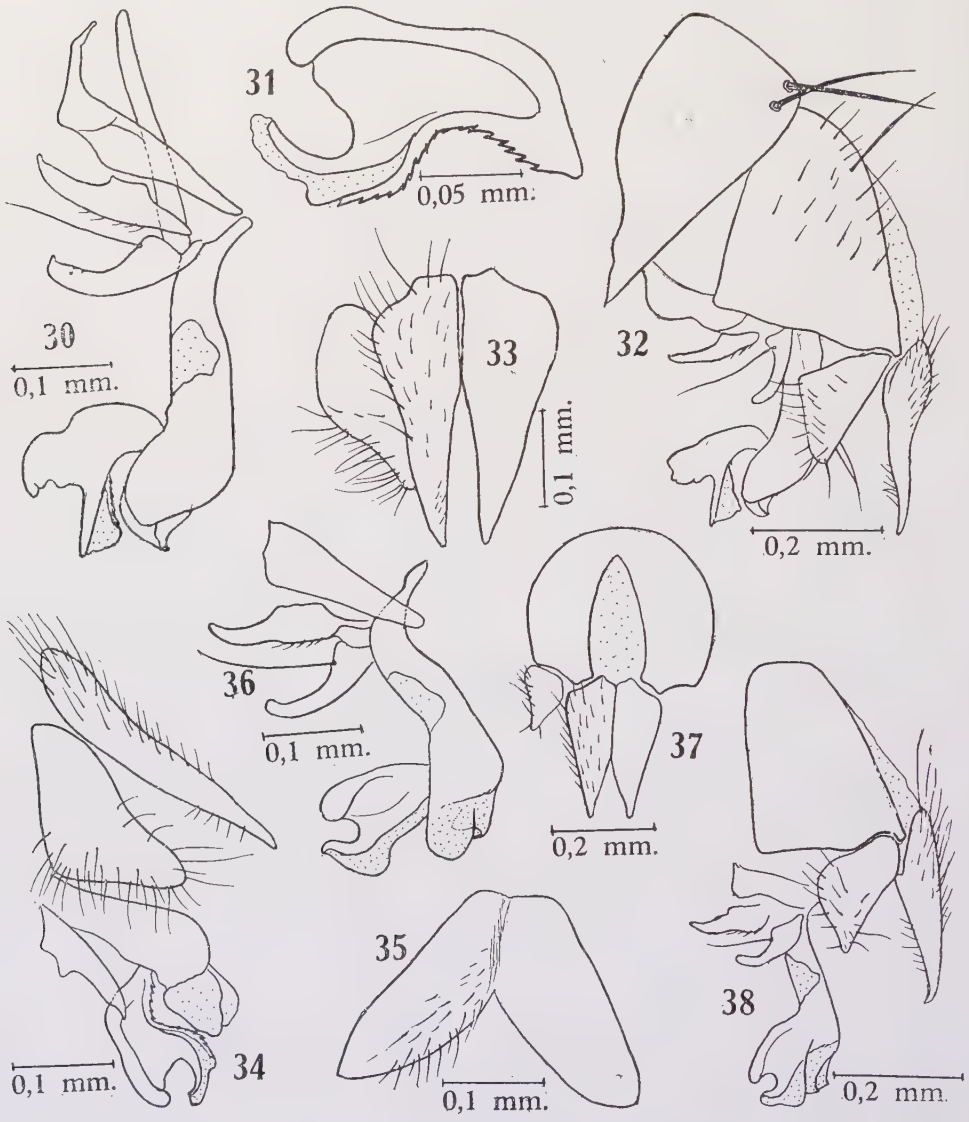
(Figs. 36 a 38)

Difere das demais espécies do gênero principalmente pelos caracteres da genitália do macho.

Macho — comprimento total: 3 mm.

Cabeça cinzenta prateada. Fronte com cêrca de 0,38 da largura da cabeça. Frontália castanho-avermelhada, mais escurecida junto ao triângulo ocelar. Parafaciália com uma série de pêlos junto às órbitas oculares; parafrontália com pêlos esparsos. Antenas cinzentas, margem inferior do 2º artículo largamente avermelhada; as antenas atingem os 0,9 da distância entre a base e o nível das grandes vibrissas. Parte posterior da cabeça com cêrca de duas séries de cerdas muito esparsas e alguns pêlos claros abaixo do pescoço. Genas com poucos pêlos, todos pretos, medindo cêrca de 0,17 do diâmetro do olho

Tórax cinzento, faixas longitudinais pouco nítidas. Esternitos abdominais I a IV com pêlos pouco numerosos que são muito mais longas nas margens posteriores. *Forcipes superiores* quase retos, com o ápice apenas



Sarcophagula tenuis Wulp, 1896 — Fig. 30: penis e pinças internas, exemplar anômalo; fig. 31: ventrália do penis; fig. 32: genitália do macho, exemplar anômalo; fig. 33: pinças externas; fig. 34: genitália do macho; fig. 35: quinto esternito do macho. *Sarcophagula indonata* sp. n. — Fig. 36: penis e pinças internas; fig. 37: pinças externas; fig. 38: genitália do macho.

encurvado, *Forcipes inferiores* sub-triangulares; apófise inferior da ventrália do penis sinuosa e estreitada. Segmentos da nervura costal na seguinte proporção: II: 29, III: 7, IV: 51, V: 19, VI: 1.

Material examinado: Holótipo macho Surinan, G. Holandesa, 30.I.1926; Oldenberg col. (nº 8.309 da coleção do I.O.C.). Parátipos: 1 ♂ do Paraguai, Caacupé, Mis. Cient. Brasil. II.1944 (nº 8.318); 1 ♂ de Mato Grosso, Brasil, Salobra, I.1941, Com. I.O.C. (nº 8.340).

Sarcophagula macrophthalma sp. n.

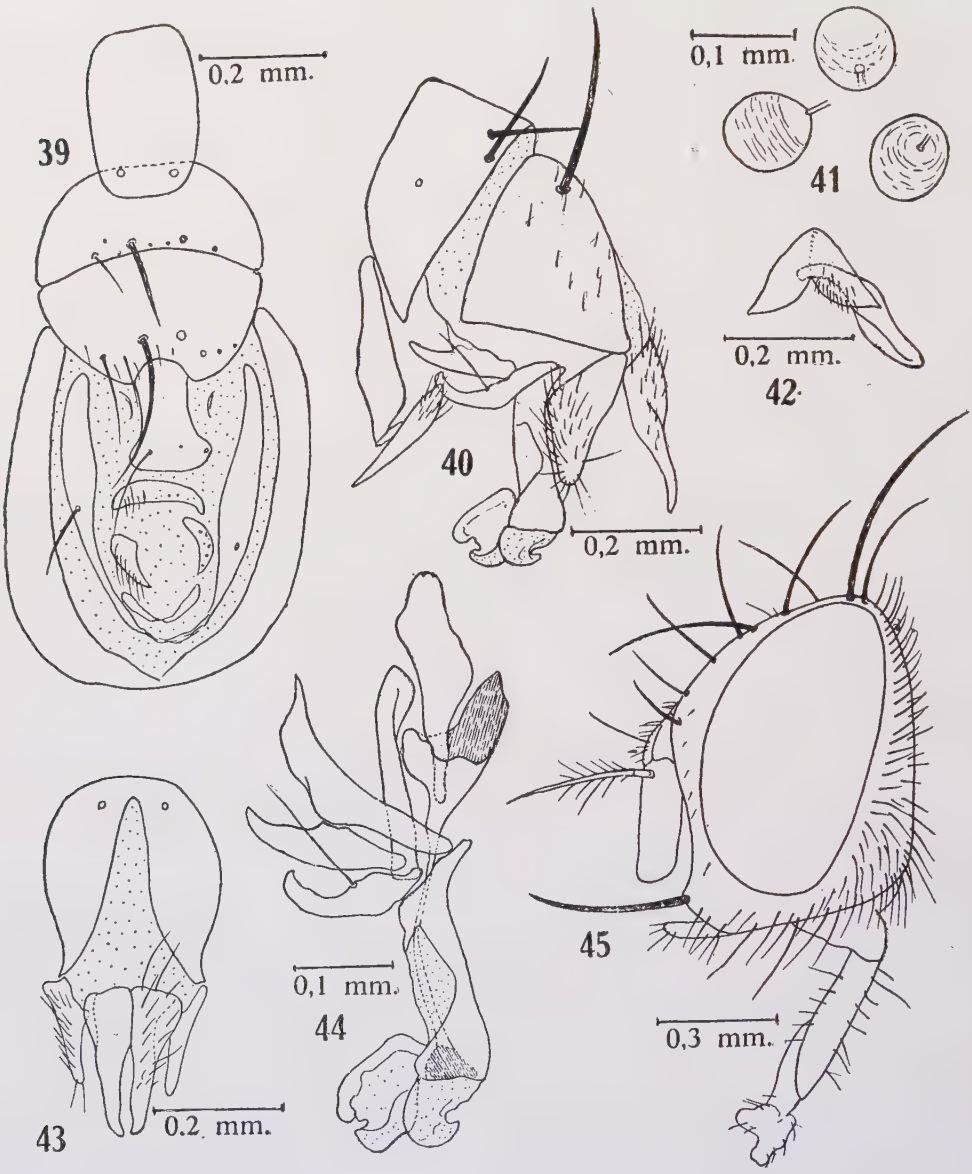
(Figs. 39 a 45)

Difere das demais espécies do gênero principalmente pela constituição da genitália do macho e pelas genas muito estreitas.

Macho — comprimento total: 3 a 4 mm.

Cabeça cinzenta prateada. Fronte com 0,34 a 0,35 da largura da cabeça. Frontália preta. Parafaciália com uma série de pelinhos junto às órbitas oculares e alguns pêlos esparsos na parafrontália. Antenas cinzentas, atingindo de 0,89 a 0,9 da distância entre a base e o nível das grandes vibrissas. Genas com uma única série de cerdas além dos cílios peristomais, medindo de 0,075 a 0,083 do maior diâmetro do olho. Parte posterior da cabeça com três séries de cerdas pretas além dos cílios post-oculares, os pêlos localizados abaixo do pescoço são claros. Cerdas preapicais escutelares situadas muito posteriormente, ocupando quase o lugar das apicais. Terceiro tergito abdominal com um par de cerdas medianas marginais sempre muito longas e erectas. Esternitos abdominais I a IV com pêlos pretos numerosos, mais longos nas margens posteriores. *Forcipes superiores* sinuosos, muito estreitos; *forcipes inferiores* triangulares, alongados e muito pilosos; apófise inferior da ventrália do penis curta e arredondada. As cerdas da metade basal da série superior existente na face ventral do fêmur posterior são reduzidas. Segmentos da nervura costal na seguinte proporção: II: 29, III: 7, IV: 47, V: 17, VI: 1.

Material examinado: Brasil: holótipo macho, alótipo fêmea e parátipos um macho e 4 fêmeas capturadas no Jardim Botânico, Gávea, Rio de Janeiro em julho de 1935 (ns. 8.300, 8.301). Outros parátipos: 2 ♂♂ do Rio de Janeiro, V.1935; 4 ♀♀ da Gávea, Rio de Janeiro, 13.X.1939 e 29.IV.1934; 1 ♂ Angra dos Reis, Jussaral, E. do Rio, Travassos e Lopes; 1 ♂ Jacarepaguá, Rio de Janeiro, D.F., IX.1934, 1 ♂ Nova Friburgo, E. do Rio, 28.IV.1937; 1 ♂ Itatiaia, E. do Rio (800 mts.) XII.1933 Lopes e Cunha.



Sarcophagula macrophthalma sp. n. — Fig. 39: genitália da fêmea; fig. 40: genitália do macho; fig. 41: espermatecas; fig. 42: quinto esternito do macho; fig. 43: pinças externas; fig. 44: penis e pinças externas; fig. 45: cabeça do macho.

SUMMARY

The present paper, a revision of the genus *Sarcophagula* Wulp, is based upon material from the Instituto Oswaldo Cruz and the American Museum of Natural History. Five species are considered, two of wich are new ones.

BIBLIOGRAFIA

ALDRICH, J. M.

1916. *Sarcophaga and allies in North America.* La Fayette, Indiana. 301 pgs. 16 pls.

ALDRICH, J. M.

1930. *Notes on the types of American two-winged flies of the genus Sarcophaga and a few related forms described by the early authors.* Proc. U.S. Nat. Mus. **78** (12): 1-39, 3 pls.

AUSTEN, E. E.

1907. *The synonymy and generic position of certain species of Muscidae (s.lat.) in the collection of the British Museum, described by the late Francis Walker.* Ann. Mag. Nat. Hist. (7) *19*: 326-247.

BRAUER, F. & BERGESTAMM, J. E. v.

1891. *Die Zweifluegen der kaiserlich Museums zu Wien V. Muscaria Schizometopa* II: 1-142, 1 fg. Denksch. Mat-Nat. Kais. Akad. Wiss. Wien **58**: 305-446.

BRAUER, F. & BERGESTAMM, J. E. v.

1893. *Die Zweifluegler des kaiserlichen Museums zu Wien VI. Muscaria Schizometopa III*: 1-152. Denksch Mat. Nat. Kais. Akad. Wiss, Wien **60**: 89-240.

COQUILLET, D. W.

1900. *Report on a collection of Dipterous Insects from Puerto Rico.* Proc. U. S. Nat. Mus. **22** (1198): 249-70.

COQUILLET, D. W.

1910. *The type species of the North American Genera of Diptera.* Proc. U. S. Nat. Mus. **37** (1719): 449-647.

CURRAN, C. H. & WALLEY, G. S.

1934. *Diptera of Kartabo, Bartica District, British Guiana, with descriptions of new species from other British Guiana localities.* Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 65: 287-532, 54 figs.

ENDERLEIN, G.

1928. *Klassifikation der Sarcophagiden, Sarcophaginen Studien* I. Arch. klass. phyl. Ent. **I** (1): 1-56, 7 figs.

ENGEL, O.

1931. *Die Ausbeute der deutschen Chaco-Expedition* 1925-26. *Diptera.* 28 *Sarcophagidae*. Konowia **10**: 140-154, 6 pls.

FABRICIUS, J. C.

1794. *Entomologia systematica emendata et aucta secundum classes, ordines, genera, species, adjectis synonym's, locis observationibus, descriptionibus.* Haffniæ. Vol. **IV** VI+472 pp.

FABRICIUS, J. C.

1805. *Systema Antliatorum secundo ordines, genera, species, adjectis synonymis, locis, observationibus, descriptionibus.* Brunsvigae. XIV+372 pp.

HALL, D. G.

1933. *The Sarcophaginae of Panama.* (Diptera: Calliphoridae). Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. **66**: 251-285, 26 figs.

Lopes, H. S.

1936. *Sarcophagideos neotrópicos novos ou pouco conhecidos*. Arch. Inst. Biol. Veg. **3**: 71-90, 28 figs.

Lopes, H. S.

1948. *Sarcophagidae do México capturados pelo Prof. Dampf. (2ª nota) Diptera*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **45** (1947): 555-570, 18 figs.

Thomson, C. G.

1868. *Kongliga Svenska Fregatten Eugenies Resa omkring Jorden. Vetenk. Iaktt., 2 Zool., 1 Insek., 12 Diptera, Stockolm*: 443-614, 1 pl.

Townsend, C. H. T.

1892. *Catalogue of the described South American species of Calypteratae Muscidae*. Ann. N. Y. Acad. Sc. **7**: 1-44.

Townsend, C. H. T.

1917. *New Genera and Species of American Muscoid Diptera*. Proc. Biol. Soc. Wash. **30**: 43-50.

Townsend, C. H. T.

1927. *Synopse dos gêneros muscoideos da região humida tropical da América, com gêneros e espécies novas*. Rev. Mus. Paulista **15**: 205-386, 3 pls. 1 map.

Townsend, C. H. T.

1935. *Manual of Myiology São Paulo* **2**: 1-289, 9 pls.

Townsend, C. H. T.

1937. *Manual of Myiology São Paulo* **5**: 1-234.

Wiedemann, C. R. W.

1830. *Aussereuropaische Zweiflueglige Insekten, Hamm* 2:12 + 684 pp. 5 pls.

Wulp, F. M. van der

1883. *Amerikaansche Diptera n.° 3*. Tijdschr. v. Ent. **26**: 1-60, 2 pls.

Wulp, F. M. van der

1887. *Sarcophagula, een niew geslacht der Sarcophaginae* Tijschr. v. Ent. **30**: 173-174, pl. 11, figs. 8, 9.

Wulp, F. M. van der

1896. *Biologia Centrali-Americana. Insecta — Diptera* **2**: 273-290, pl. 7.

Nova Espécie de Crustáceo Amphipoda da Baía de Guanabara: Ampelisca soleata

por

Lejeune P. H. de Oliveira

(Com 3 estampas)

Em águas do Brasil até hoje nunca foram verificados crustáceos, anfípodos, pertencentes ao gênero Ampelisca. Agora, no presente trabalho, o autor descreve uma nova espécie bentônica dêste gênero, que foi encontrada na Baía de Guanabara, junto de outros anfípodos e de variado material biológico. Os exemplares desta nova espécie foram capturados durante o trabalho de mar da «Lancha Henrique de Aragão», da Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz, e vieram em uma das dragagens feitas pelo autor, quando era efetuado o levantamento biológico do perfil situado na latitude sul de 22°52'.

O autor adota a monografia de Stebbing, com tôdas as divisões e diagnoses do gênero *Ampelisca*, e diferencia a nova espécie *Ampelisca soleata*, das demais espécies conhecidas, pelos itens de caracteres diferenciais, positivos, da seguinte chave de Stebbing, onde acrescentamos o novo item 7, aplicável a uma rápida diagnose da nova espécie.

CHAVE (Stebbing vol. 21, p. 99)

1.	Mero mais longo que o ísquio, no último par de pereiópodos ..	2
1a.	Mero não mais longo que o ísquio, no último par de pereiópodos	(§)
2.	Duas ondulações sinusoidais na margem posterior do 3º somito pleônico	3
	Não tem ondulações sinusoidais na margem posterior do 3º somito pleônico	(§)
3.	Espécies que têm órgãos visuais: manchas, cones ou corpos oculares, ocelos ou olhos	4
	Espécies que não têm órgãos visuais (cégas abíssais)	(§)
4.	Com cerdas curtas, dorsais, no telson	5
	Não têm cerdas curtas, dorsais, no telson	(§)
5.	Com lobulação distal, no mero do 1º par de pereiópodos	6
	Não tendo lobulação distal, no mero do 1º par de pereiópodos ..	(§)

6. Tendo a carina pouco elevada, no 4º somito pleônico 7
Não tendo carina pouco elevada, no 4º somito pleônico, mas exageradamente alta ..... (§)

7. Último par de pereiópodos apresentando lateralmente 3 espinhos em lanceta, no carpo, além disso, um lobo carpal posterior com dois espinhos em lança, tendo ao meio uma única cerda plumosa:

AMPELISCA SOLEATA (nova espécie)

Último par de pereiópodos não tendo êstes caractéres, não tendo espinhos em lanceta, mas apenas 3 cerdas plumosas carpais, posteriores ..... (§)

(§) numerosas espécies não verificadas no Brasil, ou seja porque algumas delas de fato não existam, ou seja porque muitas outras nunca foram devidamente procuradas.

Passamos a descrevê-la:

Ampelisca soleata (nova espécie) (*)

Fêmea — Cephalon — Cabeça simples e lisa, com a região frontal transversalmente truncada, tendo dois pequenos globos oculares translúcidos, quase transparentes: um no ângulo frontal superior e o outro no ângulo frontal inferior. A região ocular toma 1/3 do comprimento do cefalon, tem mais 4 formações opacas, muito pigmentadas, acastanhadas, quase negras: são dois cones oculares, relativamente separados, e mais dois outros corpos oculares, de forma irregular, muito juntos um do outro, quase se encostando —o inferior tem forma de lágrima e o superior é vermiforme.

I antena de inserção apical, bem menor que o pedúnculo antenular da II, onde alcança sòmente até os 2/3 dêste. Pedúnculo antenal tri-articulado, tendo o seu 1º artículo curto, grosso e pontudo distalmente; o artículo mediano é o dôbro do comprimento do 1º, o seu último artículo 1/3 do comprimento do mediano. Do pedúnculo não sai flagelo acessório, mas apenas o flagelo principal, com 13 artículos, medindo 1,9 vêzes o comprimento de seu pedúnculo, cuja ponta alcança até ao 2º somito pereônico, quando bem extendida.

II antena — Proporções do pedúnculo antenular: 1º artículo peduncular curto, artículo mediano 4 vêzes maior que o 1º e o último peduncular sendo 3/4 do mediano. O 1º artículo flagelar, medindo ao todo 2/3 do comprimento do último peduncular, é composto de 6 semi-artículos, ou seja de 6 artículos fusionados. Seguem-se os artículos 2-14 dispostos do seguinte modo: o 2º é o mais curto, o 3º até ao 9º são sub-iguais, o maior é o 10º, e desde o 11º até ao 14º são do mesmo tamanho, sendo o apical o 14º, que

(*) *Soleatus, a, um* — achatado, relativo ao peixe linguado.

alcança além do 1º somito pleônico, quando a antênula está bem estendida. Todos os artículos têm 1 a 4 cerdas distalmente, sempre dirigidas obliquamente para a ponta, exceto o 14º artículo flagelar, que leva 4 cerdas apicais.

Mandíbula — peças como ocorre normalmente no gênero, mas tendo a margem externa arqueada e lisa, apresentando na do lado direito: a parte incisiva, com uma corôa de 6 dentes, sendo o maior o penúltimo; 6 espinhos em dardo enfileirados paralelamente um ao lado do outro, todos dirigidos um pouco para traz; a parte molar em forma de tubérculo proeminente, ovoide, superfície constituída por fortes denticulos, dispostos como uma groza *des*-bastadora. Na mandíbula do lado esquerdo: os espinhos em dardo são em número de oito, e além disso, há uma corôa secundária com 3 dentes. Palpo triarticulado mais longo que o corpo mandibular, o seu primeiro artículo mede um terço do 2º, e o último pouco menor que o mediano.

I maxila — de feitio típico do gênero *Ampelisca*. Lâmina interna em feitio ogival, com duas cerdas curtas apicais, margem interna franjada com cabelos finos e numerosos. Lâmina externa armada com 11 dentes falcados, serrilhados, aproximadamente reunidos como que em feixes, colocados quase apicalmente. Palpo tendo o 1º artículo curto, o 2º artículo se alarga mais para fora, sendo a margem distal quase reta, armada com 4 dentes losangulares em frâmea, e entre êstes, 4 ou 5 espinhos retos, lanciformes.

II maxila — totalmente normal.

Maxilipodo — De lâmina interna estreita, alcançando até ao meio do 2º artículo do palpo. Lâmina externa mais larga, semi-elítica, alcança até à articulação dos 3º com o 4º artículo do palpo, a sua margem interna está armada com 8 fortíssimos espinhos de contôrno claviforme, êles são cada qual maior, e mudam progressivamente de forma, ficando cada um mais alongado que o precedente, até ao último, que é o 12º espinho, abruptamente maior, é em feitio de alfange. Palpo 4 — articulado, o dáctilo se articula nos 2/3 externos do 3º artículo, que é sub-foliáceo.

Gnatópodos — São muito semelhantes, ambos são fracamente sub-quelados. I placa lateral de mesma altura que a II, recobrindo a base da 2ª antena, vem se alargando progressivamente para baixo, sua margem posterior é reta. Há uma pequena reintrância na margem inferior, que forma uma pequena ponta no ângulo ínfero-posterior; superficialmente várias cerdas esparsas; a margem inferior, com poucas cerdas.

I gnatópodo — Base (ou 2º artículo) não alcança até ao fim das placas laterais, é um pouco mais largo no seu 1/3 proximal, tem 4 cerdas curtas na margem anterior; 3º artículo quadrilátero, mais curto que o mero, que é sub-pentagonal, e tem várias cerdas distalmente colocadas. 5º artículo (ou carpo) mais longo que os dois anteriores juntos, margem posterior com várias cerdas lisas e outras bi-pectinadas. 6º artículo (palma ou própodo) mais curto que o 5º, ovoidal oblongo, margem posterior com cêrca de uma dúzia de cerdas serrilhadas, margem anterior com 3 grupos de poucas cerdas, e distalmente outro grupo de cerdas. Dáctilo um pouco recurvado, pouco menos que metade do comprimento do artículo precedente, ao longo de sua margem interna: 5 espínulos decurrentes; tem um cilio dorsal, e uma cerda unguiforme apical.

II gnatópodo — Mais longo e mais delgado que o I. Mero e ísquio tendo 1/3 do comprimento do carpo. 5º artículo (carpo) estreito, mais longo duas e meia vêzes que o artículo que lhe segue, aspecto geral cilíndrico, sua margem posterior tem várias cerdas, irregularmente espaçadas. O própodo (6º artículo) é, neste par posterior, mais longo e mais estreito que o seu correspondente no I par de gnatópodos; margem posterior armada com cêrca de uma dúzia de espinhas serrilhadas, que se acham entre várias cerdas lisas. Margem anterior lisa, mas na sua extreminade distal há 2 cerdas longas; o dáctilo tem 3/4 do comprimento do própodo, é delgado, curvo, sua margem posterior tem 2 espinhos, serrilhados, decurrentes.

Pereiópodos — Divididos em 3 grupos: os que têm carpo de superfície lisa (I e II), os que têm grupos de espinhos superficiais no carpo (III e IV) e finalmente o V pereiópodo, com lobo posterior carpal. No animal, em posição natural, estas patas alcançam tôdas aproximadamente o mesmo nível, com exceção do IV par, que é ligeiramente mais longo.

I pereiópodo — Análogo ao II, mas menor e menos piloso. Com o basipodito (2º artículo) de mesmo tamanho e aspecto geral que o mero, margem anterior com 6 cerdas perpendiculares, muito espaçadas, tendo oposta a estas uma grande seta posterior mediana. 3º artículo de mesmo tamanho que o 5º, ambos sendo curtos; mero sem ter um logo distal pronunciado, mas oblongo, normal, a sua margem anterior é reta na parte mediana, tem 3 cerdas distais, e a sua margem posterior reta, também tem 3 cerdas distais. Os 5º e 6º artículos estreitados bruscamente, são de mesma largura, o mais curto é o 5º. Êstes dois artículos, isto é, o 5º mais o 6º reunidos, só chegam a ter 2/3 do comprimento do dáctilo. 6º artículo oblongo, cerdado anteriormente e enfileiradamente. Dáctilo estiliforme, medindo 4/5 do comprimento do carpo. A placa lateral dêste I pereiópodo (ou 3ª placa lateral) é alargada distalmente, sua margem anterior mais reta que a margem posterior, que é pouco convexa.

II pereiópodo — A 4ª placa lateral tem um ângulo obtuso, arredondado, póstero-inferior, é excavada no 1/3 súpero-posterior. 2º artículo análogo ao correspondente no I pereiópodo, mas tendo: ambas as margens um pouco mais abauladas, 5 cerdas lisas anteriores, oblíquas, regularmente espaçadas e no 1/3 distal 5 cerdas lisas, posteriores, espaçadas mais apertadamente. Ísquio trapezoidal, tricerdado posteriormente. Mero oblongo, reto na frente, pouco côncavo atrás, tendo de cada lado uma carreira regularmente cheia de cerdas plumosas. O carpo é o artículo mais curto e tem 1 fileira de cerdas obliquamente dirigidas. 6º artículo 3 vêzes mais longo que o carpo, várias cerdas anteriores. Dáctilo estiliforme, mais longo que o própodo, e mais longo ainda que os 5º e 6º artículos juntos. As vesículas branquiais são estriadas transversalmente.

Os pereiópodos III e IV têm ambos: o dáctilo revertido, os artículos basais muito largos, com margens anteriores convexas, os carpos longos, cilíndricos, com séries de espinhos superficiais.

III pereiópodo — A 5ª placa lateral tem 1/4 da altura da placa anterior, é reniforme, penetra 1/3 de sua porção na 4ª placa. O 2º artículo (ou basipodito) é tão comprido quanto o carpo, contudo apresenta-se mais

largo que longo, com duas dilatações sub-ovoides: uma anterior, a outra posterior, aproximadamente simétricas, e dando ao conjunto um contorno cordiforme. Margem anterior com uma dúzia de espinhos pequenos e fortes, a margem posterior lisa e quase reta; articulação ísquio-basal reta, oblíqua e simples. Artículo 3: o mais curto, tendo apenas 1/4 do comprimento do basípodo. O 4º artículo é curto, mas tem duas vêzes o comprimento do ísquio, um pouco alargado distalmente, apresenta 3 espinhos posteriores. Margem anterior do carpo: com pequenas cerdas distalmente; superfície do carpo: com 5 fileiras de espinhos sub-marginais, grupados do seguinte modo: 1ª fileira com 2 espinhos; 2ª — 2; 3ª — 3 4º — 4 e enfim a 5º com 6 espinhos. Estas fileiras superficiais acham-se para trás da linha mediana e são regularmente espaçadas. Na extremidade distal sobressaem 5 grandes espinhas, que são serrilhados anteriormente, e cujas pontas ligeiramente recurvas, voltam-se para a frente; dêles, o espinho mais curto é o 1º, ocupando o penúltimo lugar está o 4º, que é o maior, pois chega a medir 9/10 do comprimento do 6º artículo. Própodo aproximadamente reto, quase tão longo quanto os comprimentos dos 3º mais 4º artículos somados, armado de 5 espinhos posteriores. Dáctilo curvo, revertido.

IV pereiópodo — A 6ª placa lateral é sub-igual à 7ª, e pouco menos alta que a 5ª. O 2º artículo (base, basípodo ou basipodito) aparece como um grande quadrilátero irregular, com 2 recortes irregulares opostos, é pouco mais longo que o resultantes da soma dos comprimentos dos 3º, 4º e mais 5º artículos. A dilatação posterior dêste basípodo tem o feitio de letra C, alcança até a metade do ísquio. Dilatação anterior formada pelas porções súpero-anterior e infero-anterior da margem. Dez espinhos colocados na parte infero-anterior, que é de mesmo comprimento que a dilatação posterior. Um ângulo de cêrca de 115º limita a parte infero-anterior com a súpero-anterior, que é reta, lisa e tem 2/3 da largura do basípodo. Os artículos 3 mais 4, somados, ainda têm um comprimento menor que o do 5º artículo (que é o carpo). Carpo cilíndrico, com 4 espinhos anteriores e 2 espinhos antero-distais; a superfície carpal, posteriormente, tem o mesmo aspecto do carpo correspondente, no III pereiópodo, isto é: 5 fileiras de espinhos sub-marginais, sendo assim: a 1ª fileira com 1 espinho, a 2ª com 2, a 3ª com 3, a 4ª com 3, a 5ª com 5 e também tem os mesmos espinhos serilhados distais, que se acham dispostos em modo idêntico ao do par anterior de pereiópodos. O 6º artículo tem margem anterior serrilhada fracamente, 4 espinhos anteriores, extremidade distal lisa, com 3 cerdas apicais. A margem posterior, lisa, leva uma única cerda, no seu 1/5 distal. Dáctilo curto, curvo, revertido, sua margem convexa tem 3 denteações pequenas.

V pereiópodo — Seu tamanho em relação às demais patas é: de mesmo comprimento que o III pereiópodo, e 2/3 do IV. Base (ou 2º artículo) tendo o feitio, digamos, de palheta de pintor, com duas porções: uma anterior, reta e não dilatada, e outra posterior, muito larga e dilatada em elipsoide, seu limite inferior está ao nível do 5º artículo ou carpo, e sua largura máxima está no seu 1/3 inferior. Margem articular com uma reintrância oblíqua, onde se vê a inserção do 3º artículo, sendo na frente limitada por um prolongamento em ponta grossa e romba, que encosta e recobre os 2/3 superiores

do ísquio. Cerdas: 10 a 14 muito curtas, anteriores, e várias cerdas delgadas na margem elipsoide da dilatação posterior. Ísquio mais curto que o mero, na frente em ponta, e atrás em feitio cilíndrico. Mero sub-trapezoidal, com lobo posterior alcançando até à metade do carpo, neste há várias ondulações, onde se inserem cerdas sedosas. O ângulo distal frontal do carpo é cêrca de 70°, e tem poucas cerdas; seu lobo póstero-distal tem 3 frâmeas enfileiradas obliquamente o 1° espinho em frâmea é o menor, acha-se mais em cima, o 2° espinho pouco maior, inserido mais para baixo e mais para trás, o 3° espinho, que já é duas vêzes maior que o 1°, quase chega a tocar na margem do lobo posterior. Na margem distal há 2 espinhos em lança, que são cêrca de duas vêzes maiores que o 3° em frâmea. 6° artículo (propodal) mais longo que o 5°, margem anterior reta, margem posterior um tanto foliácea. O dáctilo chega a ter 4/5 do comprimento do própodo.

Pleon — os 1° e 2° somitos têm o mesmo comprimento e a mesma altura; o 3° é sub-quadrilátero; o 4° pouco menor que o 1/2 do 3°; 5° e 6° fundidos. O 1° somito pleônico é um pouco mais alto que o 2°, margem inferior lisa e convexa; 2° somito medindo cêrca de 2/3 do 3°, inferiormente arredondado, tendo 4 cerdas nas ondulações marginais; 3° com ondulações sinuosoidais, póstero-laterais, formadas por duas concavidades voltadas para trás: uma menor e inferior, outra maior e mediana. A concavidade pequena limita-se com uma ponta em ângulo agudo; a margem inferior é em arco regular, forma um ângulo de pouco mais de 90° com a porção reta e curta da margem anterior. 4° somito alargado posteriormente, sua carina dorsal não é muito elevada, termina em um ápice, que se eleva por cima do somito seguinte. 5° somito sòmente mostrando a porção superior distintamente separada do 6°, formando um degrau, que mede 2/3 do comprimento do 4° somito; não se vê sutura lateral do 5° com o 6° somitos, mas, inferiormente, na posição em que esta deveria existir, há uma nítida inserção do pedúnculo uropodal correspondente. Região pertencente ao 6.° somito sub-quadrilatera medindo 2/3 do comprimento do somito anterior.

Urópodos — O pedúnculo do 1° urópodo alcança até a mesma distância que o último somito do urosoma, suporta os seus dois ramos sub-iguais e de mesmo comprimento que o 4° somito pleônico. 2° urópodo com ambos ramos de mesmo tamanho, tendo o ramo externo a sua margem inter-ramos serrilhada, com 1 espinha no seu 1/3 proximal, no 1/6 distal com uma espinha longa, que se antepõe à extremidade ramal curva, e forma um conjunto que da um certo aspecto de pinça caudal, à primeira vista. O 3° urópodo é muito mais longo que os outros, o pedúnculo mais grosso, tem um gancho e pequenas espinhas distais internas; os ramos são foliáceos, quase de mesmo comprimento. O ramo mais largo, com margem exterior seguindo uma direção reta na porção mediana, onde tem 5 ressaltos para 5 cerdas. Próximas ao 1/3 da extremidade distal, existem duas cerdas, quase emparelhadas: 1 marginal e outra sub-marginal, daí para fora segue-se a porção marginal recurva, onde se encontram 6 cerdas; na extremidade do ramo há uma ponta, com ambos lados curvos, ponta cujo lado maior está começando na antepenúltima inserção cerdal; margem interna do ramo: com 4 cerdas distais, antes do par que é quase emparelhado (cerda marginal com sub-marginal) ficando aquelas no 1/3 distal. Ramo externo: 2/3 da largura do ramo interno, tem

10 espinhos fortes, serrilhados, sub-marginais, externos, 6 a 8 cerdas plumosas, distalmente colocadas na margem externa; no ápice uma ponta fracamente recurva para fora, tendo na sua base uma inserção para duas cerdas plumosas; a margem inter-ramos tem 9 inserções, onde nascem as 9 cerdas plumosas inter-ramais.

Telson — Oblongo, com o sulco estreito, reto, chanfrado paralelamente até 2/3 de sua linha mediana; dorsalmente tem 4 sétulas, e apicalmente 1 cerda e 1 sétula.

Medidas — Na posição normal, isto é, como ficou o animal fixado por formol, assim como está na fig. da estampa I, em posição arredondada, da fronte até a ponta do 3º urópodo: 6,7 mm (Holótipo). Comprimento máximo, animal estendido, medidas tomadas na linha mediana, sendo a 2ª antena estendida até linha reta: II antena — 4,3 mm; cephalon — 1,250 mm; Péreon: I — 0,28; II — 0,38; III — 0,55; IV — 0,60; V — 0,73; VI — 1,00; VII — 0,80; Pleon — 1º somito — 0,73; 2º — 0,70; 3º — 0,80; 4º — 0,50; 5º + 6º = 0,50 mm; telson 0,5 mm. Comprimento total máximo — 13,620 mm.

Distribuição Geográfica — Na Baía de Guanabara acham-se distribuídos desde 43º11' até 43º12' de longitude W. Green. por latitude 22º52', na Corôa do Chapéu de Sol, a 4 metros de profundidade. Foram encontrados entre os siris-baús (*Hepatus princeps*) e entre vários moluscos (*Tachicardium muricatum, Dosinia concentrica, Bulla* sp.) e vermes (*Terebellidae* e *Chaeptopterus*). Os mapas e perfis dêste levantamento biogeográfico encontram-se na publicação do autor, nas *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 1950*, vol. *48*, p. 374-377. Êstes animais foram dragados em junho de 1951, sendo o tipo datado de 13 de junho de 1951.

Material Examinado — Holótipo (Catálogo da Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz) ns. 3.538 — 3.545 e 3.545-A — animal dissecado e distribuído em nove lâminas microscópicas; Cat. n.º 3.537 — 1 animal inteiro, montado com diafanisação; e 3.546-3.551 — 5 animais inteiros; sendo 3.345-3.354 — 10 lâminas contendo as peças de um exemplar dissecado, todos capturados nas localidades acima expostas.

TRANSLATION

A New Species of Amphipoda from Guanabara Bay : Ampelisca soleata

Among some amphipods brought to the Instituto Oswaldo Cruz Hydrobiological Laboratory, from Guanabara Bay, there were found several specimens of a new species of Ampelisca, a genus which heretofore has not been reported from Brazil. They were dredged up by myself, on board the «Henrique de Aragão Research Boat». A survey was being effected along the 22º52' South Latitude profile when they were found, amphipods amidst biological materials.

I follow Stebbing's key, in his division of *Ampelisca*, and the new species *Ampelisca soleata* falls in to these divisions as follows:

1.	Peraepod 5, 3rd joint shorter than 4th	2
	Peraepod 5, 3rd joint longer than 4th	(§)
2.	Pleon segment 3 post. lateral margin bisinuate	3
	Pleon segment 3 post. lateral margin not bisinuate	(§)
3.	Eyes present	4
	Eyes absent	(§)
4.	Telson with setula dorsally	5
	Telson without setula dorsally	(§)
5.	Peraepod I, 4th joint not producing distal lobe	6
	Peraepod I, 4th joint with produced distal lobe	(§)
6.	Pleon segment 4, dorsal carina little elevated	7
	Pleon segment 4, dorsal carina much elevated	(§)
7.	Peraepod 5, 5th joint carrying 3 long plumose setae in the rear angle	(§)
	Peraepod 5, 5th joint carrying 3 lancet-shaped spines near the rear distal end and a plumose seta between two lanciform spines on the rear lobate angle	

Ampelisca soleata new species

(This new species was designated by me in the sole fish manner: *Solcatus-a — um*)

description of the *Ampelisca solcata* n. sp.

Female — Front of head transversely truncate, without rostrum, with two translucent rounded eyes situated on both side corners of front: next to the eyes stand two thickened darkly pigmented truncate-cone shaped lenses, more contiguous than eyes, and behind these there are two ocular bodies, side by side, the lower of which being tear-shaped, and the other worm-shaped, both darkly pigmented like the lens. Antenna I is attached at the apex of the head without accessory appendage, it is small but longer than the cephalon and 1st and 2nd segments of mesosome combined; it is shorter than the peduncle of the second antenna, where it comes only to the middle of the 3rd joint. Antenna I has the 1st joint of its peduncle short and thick, with a superior distal pointed corner, as long as one half the 2nd; 3rd joint 1/3 the length of 2nd. The flagellum, composed of 13 articulations, is 1.9 longer than its peduncle.

Antenna II, extending beyond the 1st pleon somite, when stretched gets about to the 2nd pleon somite; the 1st joint of its peduncle is short, 1/4 the length of the 2nd, the 3rd about 3/4 the second. The flagellum presents 14 joints; the first joint is composed of 6 semi-articulations, mea-

(§) Species not found as yet in the Brazilian Coasts, Stebbing, Vol. 21, p. 99-100.

suring altogether about 2/3 the total length of the 3rd peduncle joint. The second joint is shorter than the 3rd; from 3rd-9th they are sub-equal, the 10th is the largest, 11th and 14th are equal-sized, the 14th presenting apical setae topping. One to four setae to each of the articular distal ends are normally pointing.

Mandible — Normal parts well-developed, arched exterior margin extending regularly from the mandible trunk to the cutting plate. Cutting plate divided into 6 teeth of which the penultimate extends beyond the rest. On the left mandible there appear three other teeth, forming a secondary plate. The spine row is of 8 closely set, bacward curving spines which are bi-denticulate to the apex. The right row has 6 denticulate spines. The molar tubercle is prominent, ovoidal, crown set with strong denticles and having a margin above its distal border; the palp, longer than the mandibular trunk, set over the molar tubercle with 3 joints, of which the first is 1/3 the length of the 2nd, and the 3rd sliphtly shorter than the 2nd.

Maxilla 1 — All normal parts are well-developed. Inner lower margin is fringed with very slender hairs. Inner plate small, with two short setae on the narrow apex; outer plate has eleven apical toothed spines; the 1st joint of the palp is quite short, the 2nd widens distally, with distal margin cut into four losangular teeth, amidst 4 or 5 upright spines.

Maxilla 2 — All normal parts are well-developed.

Maxillipeds — Inner plate narrow, reaching the middle of 2nd joint of palp; outer plate is large, rather reaching the articulation between the 3rd and the 4th joints of palp, its inner margin set with 8 strong spine-teeth, which are spoon-shaped in outline, regularly and progressively increasing in size up to the distal margin, gradually changing their form until the 12th spine, which is the last, and which resembles a scythe. Palp with 4 joints, the finger articulating near the 2/3 of the sub-foliaceous 3rd joint.

Gnathopod 1 — Imperfectly subchelate; side plate 1 same deth as 2nd side plate, concealing base of antenna 2, wider at base and straight rear margin, with a sharp point on the lower corner; on its surface there are scattered some small bristles; lower margin is setose. The base (or 2nd joint) does not reach the side plates, a little wider on its 1/3 proximal, with 4 short setae on the front margin. 3rd joint shorter than 4th and this last presents several setae distally positioned. The 5th joint is longer and broader than the 3rd and 4th combined, with numerous smoothed bristles and indented spines in the rear margin. The 6th joint os shorter than the 5th, narrow-oval with about a dozen sawed spines on the rear margin; front margin with 3 groups of a few setae and, distally disposed, another group of 3 or 4 setae. The finger (7th joint or dactylus) is curved, rear margin a little less than half the size of the propodos (6th joint), with 5 decurrent spinules along the inner margin; short nail and one dorsal cilium.

Gnathopod 2 — Imperfectly subchelate, it is longer and more slender than the 1st. Mero and isquium are the same size, both short, each of the joints measuring about 1/3 of the carpus. 5th joint (carpus, wrist) very

long and narrow, longer than 2 1/2 times the 6th joint; it is cylindric and provided with several spines on the rear margin. 6th joint (the hand) is longer and narrower than in the first gnathopod, with about a dozen toothed spines among several smooth bristles on the real margin; the front margin is smooth, except for its distal end. The finger is as long as 3/4 of propodus, slender, curved, with two decurrent toothed spines along the rear margin.

Peraepods — The 1st and 2nd peraepods presents some resemblance; the first is smaller than the 2nd and the 4th joint is longer and more setose in peraeopod 2 than in peraeopod 1.

Peraeopol 1 — Second joint — basal article — as expanded as the meros, its anterior margin is straight with about six setae, and posterior margin shows a perpendicular seta in the middle. 3rd joint as short as 5th. 4th joint without distal lobe, and anterior margin with 3 distally disposed bristles, which margin is straight throughout its median portion; the posterior margin is convex and has 3 bristles distally; 5th and 6th joints are the same width, the 5th being somewhat shorter. The 5th and 6th combined are about 2/3 the lenght of the 7th joint. The 6th joint is oblong, and its anterior margin is set with several bristles. The 7th joint is a styliform dactylus, as long as 4/5 the lenght of the 5th joint. The 3rd side plate is very wide distally, its front margin is straighter than the rear margin, which is a little concave.

Peraeopod 2 — Lower and rear margins of the 4th side plate form an obtuse rounded angle, and the upper and rear angle seems as if cut off at corner, at a point 1/3 to the side of plate 5. 2nd joint much as in the first peraeopod, but its margins curve conxexely, front margin with several bristles at regular spacing, and 5 other bristles near the distal end of rear margin; 3rd joint presents 3 bristles; 4th joint has a straight front and slightly convex rear margin, a row of long plumose setae, regularly arranged, being provided for each margin. The 5th joint — carpus — is the shortest and it presents an oblique row of bristles, deviating from the rear proximal to its front distal edge. The 6th joint, with three times the length of the 5th, is provided on its front margin with a row of numerous bristles. The 7th, styliform dactylus, is longer than the 6th and also longer than 5th and 6th combined. Branchial vesicles transversely plaited. Peraeopods 3 and 4 both terminate in a short curved dactylus directed posteriorly, with a very broad basal second joint, front edge strongly curver in the middle and the long carpus — 5th joint — carrying a series of strong spines within the rear margin.

Peraeopod 3 — Side plate 5 is slightly reniform and about 1/4 the depth of side plate 4. 2nd joint equals the 5th in length, but is very broad, heart-shaped, with two symmetrically increasing expansions of nearly the same size — the one in front is rather like an egg in shape and bears about a dozen small strong spines. The 3rd and 4th joints are short, the 4th distally a little widened, presenting 3 small spines in the rear. The 5th joint

(carpus) shows small bristles in its front distal end and is strongly spined throughout its rear surface, which bears 5 equally spaces groups of spines, each group presenting 2 — 2 — 3 — 4 — 6 spines; on the distal rear of joint: 5 sawed spines each presenting toothed front margin, smooth rear margin and forwards pointing tip. The first sawed spines is the shortest, and the 5th — the penutimate — measures 9/10 the length of the 6th joint. The 6th joint is nearly straight, equalling in length 3rd and 4th joint combined, rear margin with 5 spines. Short curved backwards directed dactylus.

Paracopod 4 — Side plate 6 a little smaller in depth than side plate 5 and sub-equal to side plate 7. 2nd joint (basis) longer than joints 3 + 4 + 5 combined, its rear expansion is C-shaped and reaches almost to the middle of the 3rd joint; its anterior portion presents 10 spined front margin, as long as the rear expansion, which forms an angle of about 115° to the smooth superior front margin. The 5th joint — carpus — is longer than the two preceding ones combined, with almost cylindric form, front margin with 4 spines and 2 spines laterally on distal end; along its rear surface, at equal distances, there are found 5 groups of strong spines, each of them with 1, 2, 3, 3, 5 spines, the fifth group standing on its end, presenting sawed spines identical to those of the 3rd peraeopod. The propodus, 6th joint, presents front margin with 4 spines, minutely toothed throughout its extension, between the spines; distal end is smooth, with 3 bristles on top, rear margin also smooth Kith only one spine on 1/5 distal. Short curved dactylus directed backwards, with 3 projections resembling pointed teeth on its convex margin.

Last pair of peraeopod — About as long as the 3rd, and shorter by 2/3 than the 4th. 2nd joint —or basal joint — longer than the remaining part of the leg, with posterior expansion reaching the 5th joint; its greatest width is at the 2/3 lower setting. The front margin is straight, has 10-14 very short setae and its distal edge projects an angular corner, enclosing 2/3 of the 3rd joint. The joint articulation between basis and ischium is nearly parallelogramic. The rear expansion, with the rounded posterior margin, is fringed with several slender setae and it is half-way continued, at bottom, without setae and nearly square. The 3rd joint is shorter than the 4th and presents distal corner at the front portion and a cylinder at posterior section. The 4th joint is a sub-trapezoid produced backwards into a setose lobe with undulating margin, extending at the middle of the 5th joint. Fifth joint: front margin with distal corner at angle of 70° fringed with a few setae and, near distal end, obliquely carrying a row of 3 lancet-shaped spines and a plumose seta between two lanciform spines, on the lobate rear angle. The 6th joint is longer than the 5th, straight at front and rather foliaceous at rear. The 7th joint, lanceolate dactylus, measures about 4/5 the lenght of the 6th joint.

Pleon — 1st and 2nd somites are about same length and same depth; the 3rd does somewhat resemble a square and the 4th measures a little more than half the 3rd; the 5th and 6th are coalesced.

The first pleon somite is slightly deeper than the 2nd; below the margin it is convex and smooth; *the 2nd pleon somite* is about 2/3 of the 3rd somite, rounded and with 4 setae below, on ondulated margin.

The 3rd pleon somite presents bisinuate postero-lateral margin, with two backward concavenesses, being the distal concavity much smaller than the mediane, and the bottom it is produced backwards in a sharp angle; lower margin evenly arched, forming a little obtuse angle at the junction of this lower edge with the upright portion of its front margin.

The 4th pleon somite widens posteriorly, with dorsal carina not so elevated, dorsal apex raised above somite 5.

The 5th pleon somite only presents, in its higher portion, something rather like a step, descending to the lower lever, from the 5th to the 6th somite; this step measures 2/3 the length of the 4th somite; at a similar position, there is placed the 2nd uropod into the somite. There is no division between the 5th and 6th somites.

The 6th pleon somite looks like an irregular, square, 2/3 the length of the 5th somite.

1st uropod with a peduncle rather reaching the last somite of urosome, has two sub-equal ramii, both of them the same length as the 1st urosome somite (= 4th pleon somite).

Penultimate pair of uropods with its outer ramus equalling inner ramus in lenght, minutely toothed throughout inner margin, and bearing one spine on its slightly thick proximal 1/3; the distal end is curved, and presents at its 1/6 a very long slender spine, at first sight presenting a somewhat sub-chelate form.

Uropod 3 reaches beyond the the others, peduncle with angular outer corner and inner corner with one curved spine and little spines. Foliaceous ramii, both being about the same lenght. Inner ramus about 3/2 wider than the outer, outer margin in the median portion with 5 setae, nearly straight at border; about 1/3 distally, there are two setae side by side, next the distally curved portion of the margin with denticulations of other 6 setae; on top a sharp point at the base of the last setae but two, inner margin. Inner margin distally presents 4 setae and next to these, very closely, two setae side by side, at the 1/3 distal, and another marginal seta at about the middle of margin. Outer ramus presents outer surface with 10 sawed spines and outer margin has distally 9 plumose setae; at the top, there is a slightly curved point, on inner side of which may be found an indentation with 2 plumose setae; the inner margin bears 9-12 teeth, at the base of each of which there is a plumose seta.

Telson is oblong, straight cleft 2/3 of its length, with 4 pairs of dorsal setules and, on apex, 1 small and 1 normal setulae.

Measurements — Normal position measurements (holotype), i.e. according to Plate I, Fig., in rounded position, as first fixed by formalin: from front to top of 3rd uropod: 6.7 mm.

Maximum lenght, animal stretched, drawn out to its greatest lenght, along the dorsal line:

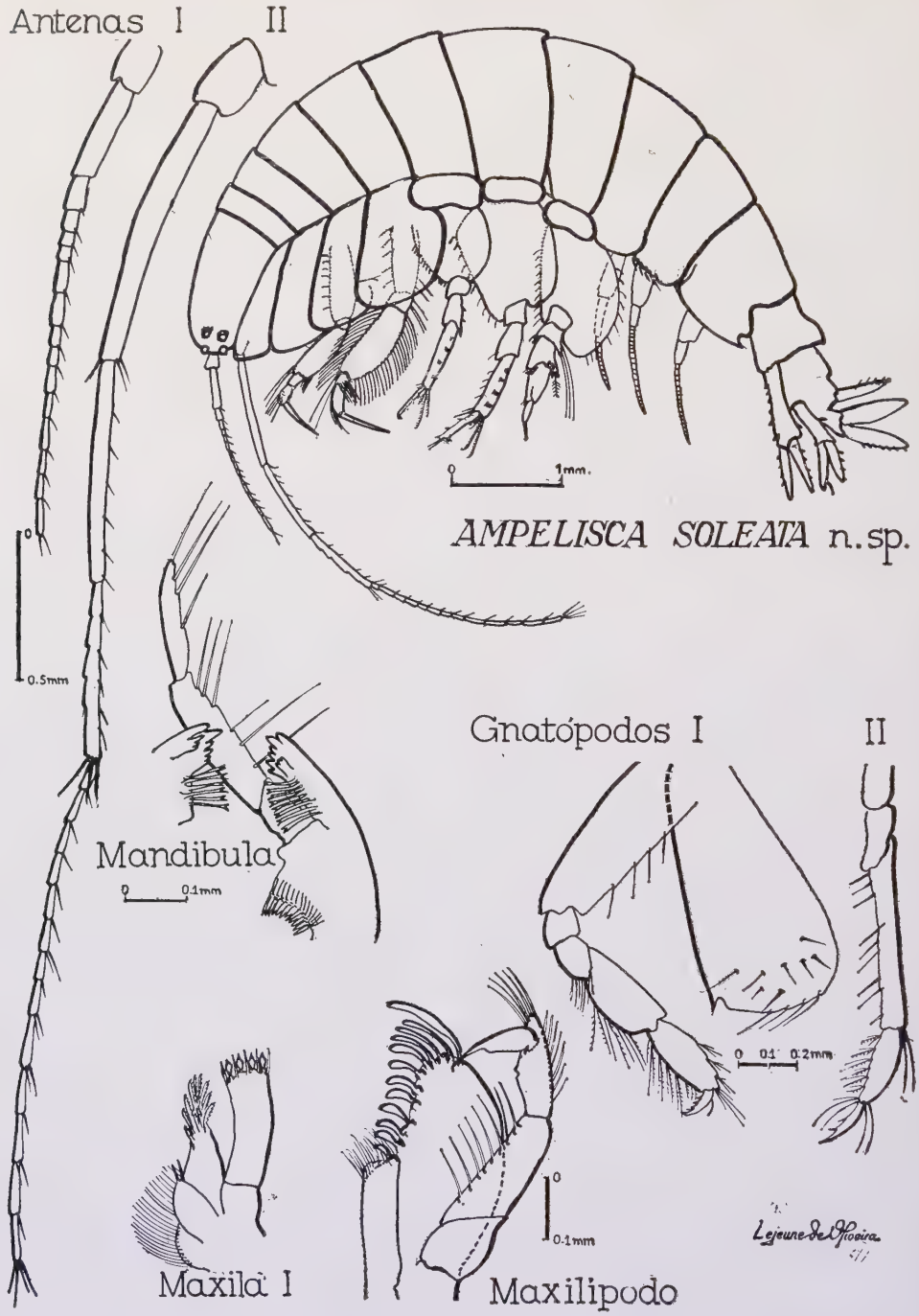
2nd antenna: 4.3 mm Chephalon: 1.250 mm; Pereon: I — 0.28; II — 0.38; III — 0.55; IV — 0.60; V — 0.73; VI — 1.00; VII — 0.80; Pleon: 1st — 0.73; 2nd — 0.70; 3rd — 0.80; 4th — 0.50; 5th + 6th — 0.50 mm; Telson: 0.5 mm. Total maximum length: 13.620 mm.

RANGE — Off Rio de Janeiro and into Guanabara Bay, South Lat. 22°52' and West Greenw. Long. from 43°11' to 43°12', at the «Umbrella Sandbank» — Corôa do Chapéu de Sol — 4 meters depth. Among *Hepatus princeps*, Doly Warden crabs, several shells: *Tachicardium muricatum, Dosinia concentrica, Bulla* sp. and worms: *Terebellidae, Chaeptopterus*.

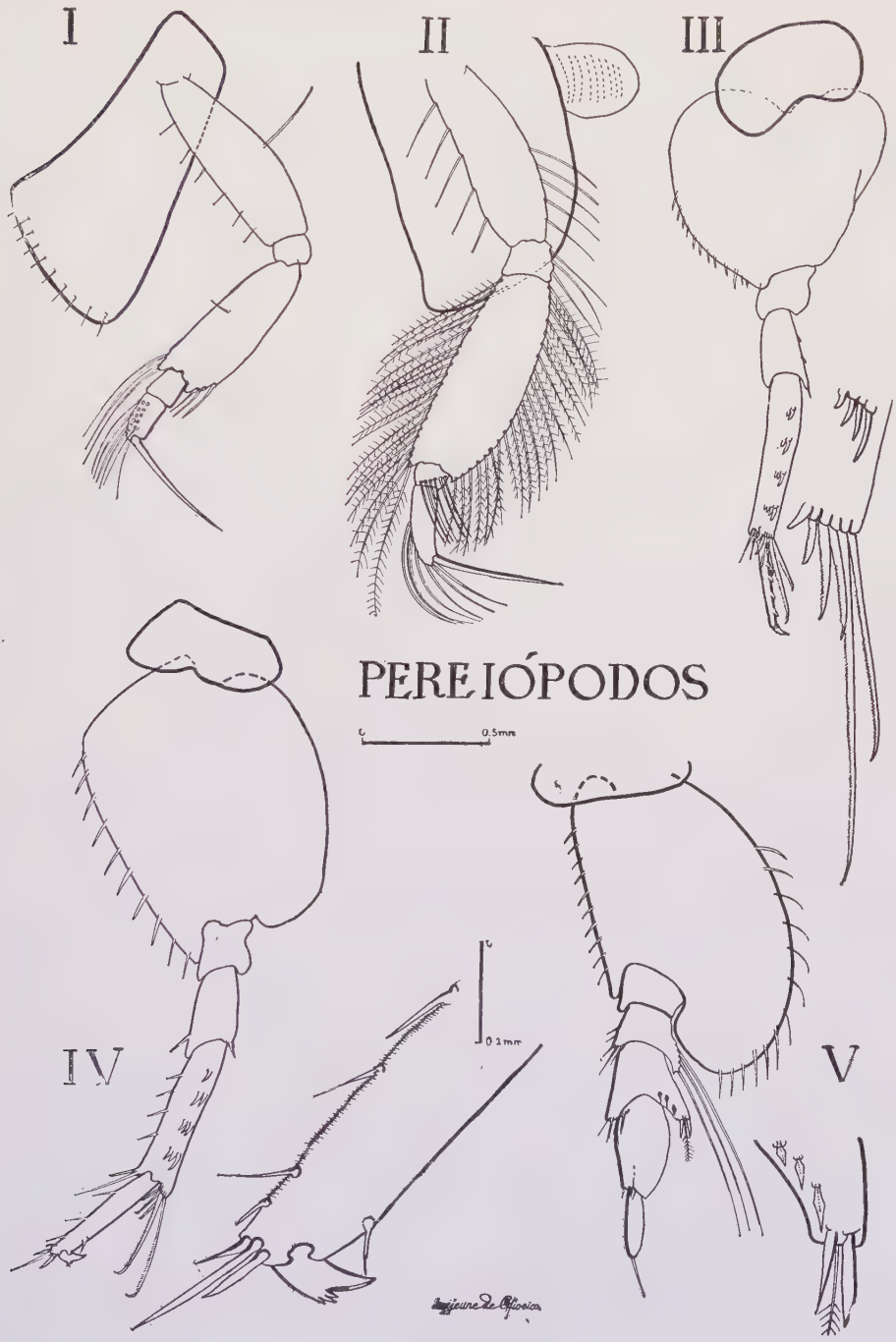
Profile and maps in: OLIVEIRA, L. DE — *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 1950, Vol. *48*, P. 374-377.

Dredging on June 13th, 1951, by the author.

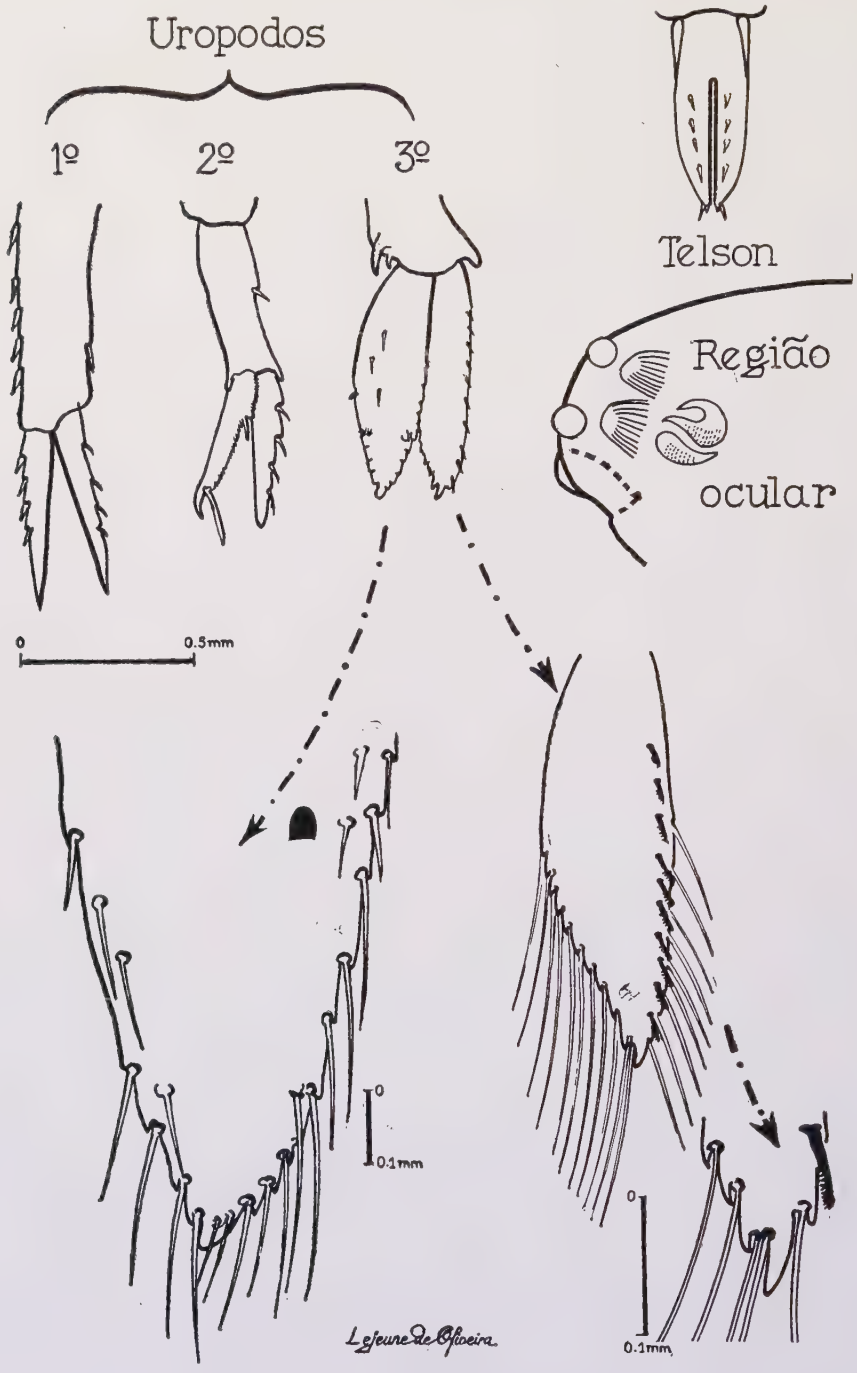
MATERIAL EXAMINED — Holotype in «Cat. Estação de Hidrobiologia do Instituto Oswaldo Cruz», No. 3538-3545 and 3545A: 9 microscopic slides with the dissect type; Cat. No. 3537 — 1 complete unbroken animal in microscopic slide; and 3546-3.551, 5 whole animals; and 3345-3354: 10 other slides with 1 specimen, dissecting slides.


Antenas I II
1mm.
AMPELISCA SOLEATA n.sp.
0.5mm
Gnatópodos I II
Mandibula
0.1mm
0 01 0.2mm
0.1mm
Maxila I
Maxilipodo
Lejeune de Oliveira

ESTAMPA I



ESTAMPA II


Uropodos
1º
2º
3º
Telson
Região
ocular
0
0.5mm
0
0.1mm
0
0.1mm
Lefevre de Oliveira

ESTAMPA III

Lepra Experimental em Macacos

Ação patogênica de bacilos ácido-álcool resistentes isolados de leprosos (amostras «Chaves» e «Emilia») para a **Macaca mulatta** e o **Cebus fatuellus** (*)

(Com 10 estampas, sendo 1 em côres)

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo
(Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro)

MATERIAL E MÉTODOS

Resumimos neste trabalho os resultados de estudos sôbre lepra experimental que fizemos, de Novembro de 1949 a Dezembro de 1954, em sete exemplares de *Macaca mulatta* e dois *Cebus fatuellus*. Sabendo, por experiências anteriores reiteradas, que os animais peludos são refractarios à infecção leprosa, démos preferência ao rhesus por ter a cara glabra.

Inóculos — Como material infectante empregámos as seguintes culturas de bacilos a.a.r. que isolámos de leprosos :

1. Amostra "Hecke" ("H"), cultura não-cromogênica obtida da biópsia (13-7-49) de lesão lepromatosa de A.A. Hecke, homem de 26 anos, caso L2-N1, após 50 dias de incubação a 37ºC (1).

2. Amostra «Chaves I» («CI»), cultura cromogênica obtida da 7ª biópsia (5-9-49) de lesão lepromatosa de J. L. Chaves, homem de 30 anos, caso L2-N2, após 30 dias de incubação a 37ºC.

3. Amostra «Chaves II» («CII»), cultura cromogênica obtida da 14ª biópsia de lesão residual do joelho esquerdo do doente acima, após ter tomado 3.220 cm3 de *Promin* por via intravenosa; morfológica e biològicamente idêntica à amostra "CI".

4. Amostra "Maria D." ("M.D."), retrocultura da amostra "CI" obtida da biópsia (23-1-50) de abcesso formado em cicatriz de reação de Mitsuda ++++, do antebraço esquerdo de Maria D., de 18 anos, caso Lt, em consequência da inoculação, na sua coxa direita, de 0,2 cc. de emulsão

---

(*) Parte da conferência feita no "Cours Supérieur International sur Maladies Tropicales et le Paludisme" organizado pelo "Conseil des Organisations des Sciences Médicales". Universidade de Istambul, Turquia, 25-8-1953.

da cultura viva de Chaves, seu marido. Cultura cromogênica morfológica e biológicamente idêntica à amostra "CI".

5. Amostra «Emilia» («E»), cultura cromogênica obtida da biópsia (28-2-50) de lesão lepromatosa de Emilia J. P., de 53 anos, caso L2-N2, após a incubação de 20 dias a 37ºC. (2). Trata-se de bacilos fortemente ácido-álcool resistentes, Gram positivos e que, corados pelo método de Fontes, mostram as fórmas clássicas das micobactérias patogênicas; positivos à fluoroscopia e parcialmente positivos à reação cito-química de Dubos, para virulência, segundo a maior ou menor intensidade do seu pigmento amarelo. Todos êsses bacilos já foram examinados ao microscópio eletrônico e ao de contraste de fases, cujos resultados serão objecto de outro trabalho.

Via de inoculação e doses — Adotámos sempre a via subcutânea para as inoculações dos nossos símios. Para infectar ratos com o bacilo de Stefansky, o Mestre Marchoux empregava a dose de 0,4 cc. de emulsão fresca de leproma. Nos símios, que pesam de 30 a 50 vezes mais que os ratos, empregámos doses variando entre 1 e 2 cm3 de emulsão de cultura viva, portanto, no máximo 5 vezes maiores do que aquela. Em teôr bacteriano as suspensões de culturas correspondem às de leproma.

SUMÁRIO DOS PROTOCOLOS

RHESUS N.º 1 — Femea de 4 meses. Foi inoculado a 11-11-49 com 0,5 cc. de emulsão da cultura «Hecke», 2ª geração de 26-9-49, na fronte e igual dose no peito. A 21-11 apresentava um nódulo no sobrolho esquerdo, e nada palpavel no peito, região muito peluda. A 25-11 foi inoculado na fronte e em cada face com 0,5 cc. de emulsão da mesma cultura "H", 3.ª retrocultura, procedente de pus de tumor inguinal de camundongo preto. A 29-11 apresentava um nódulo na face direita, e a 15-12 dois pequenos nódulos na fronte, sendo um residual da 1ª inoculação e outro da 2ª, além de um grande nódulo em cada face, cuja histopatologia, 60 dias após a inoculação (9-1-50), revelou granulomas, semelhantes ao leproma humano. (3)

RHESUS Nº 2 — Macho de 4 meses, pesando 2,5 kg., foi inoculado a 22-3-50, na fronte e regiões malares, com 1,5 cc. da cultura "Chaves I" em caldo glicerinado a 5%, velha de 80 dias. Este símio foi inoculado sete vezes, de 22-3-50 a 14-8-51, o que parecerá exagerado, mas Charles Nicolle e Blaizot (4) inocularam 16 vezes em 60 dias um *Bonnet chinois*, menor que o Rhesus, com material de lepra humana. De 10-4-50 a 28-8-51 o rhesus 2 sofreu nove biópsias para bacteriologia, histopatologia e passagens.

Na 1ª biópsia, feita a 10-4-50, 19º dia da inoculação, o material obtido revelou-se rico em bacilos a.a.r. nos esfregaços e cortes, e a sua histologia era semelhante à do leproma humano, segundo o informe do Prof. Magarinos Torres (P.C. 16.398). A 2.ª inoculação feita a 29-4-50 com suspensão de tumor do rhesus n.º 3, infectado com a cultura "Emilia". Após 15 dias os dois nódulos formados nas regiões malares se assemelhavam a lepromas flóridos, cuja baciloscopia foi positiva. 70 dias depois (20-6-50) o símio já apresentava aspecto normal e foi então inoculado com a retrocultura

"Emilia" do mesmo rhesus n.° 3. A reação local, assim como a geral, foram muito mais violentas que a produzida pela inoculação do tumor. Aos 5 de Julho extirpei os 4 nódulos da cara desse macaco, oferecendo dois ao Dr. Arthur Porto Marques, do Serviço de Lepra do Distrito Federal, para seus estudos e utilizei os outros dois para bacteriologia e histopatologia. Os esfregaços desses tumores, corados pelos métodos de Ziehl-Neelsen, Gram e Fontes deram resultados positivos.

A suspensão desses tumores deram resultados positivos também à fluoroscopia e à reação de Dubos para virulência. No dia 17 de julho a baciloscopia das fezes do macaco foi positiva para bacilos a.a.r. Nesse dia extirpei-lhe o último nódulo residual da fronte, também positivo para bacilos a.a.r. Aos 10 de agosto, 50.° dia da última inoculação, verifiquei que o animal estava muito magro, com os gânglios inguinais palpáveis e o muco nasal positivo (++) para bacilos a.a.r. semelhantes aos do inóculo. Nesse dia re-inoculei-o (4ª inoculação) com a sua própria cultura (cepa «Emilia») obtida da biópsia de 5 de Julho, apresentando uma reação mais intensa que as anteriores, produzindo nódulos que dez dias depois começaram a se ulcerar. 60 dias após (10-10) estavam cicatrizados. Aos 20 de outubro (70.° dia da última inoculação) re-inoculei-o com a retrocultura de rato branco da mesma cepa "Emilia". As reações, local e geral, foram mais intensas que as anteriores. A passagem da cultura do bacilo humano no rato parece ter aumentado muito a sua virulência. O exame histopatológico da 5ª biópsia, feita a 8-11-50, segundo relatório do Dr. Jorge P. Guimarães (P.C. 16.792) revelou um esboço de granuloma tuberculoide, facto de consideravel importância patológica.

No 30.° dia da 5.ª inoculação (20-11) o exame do pus colhido nas lesões tendo sido positivo (++), foi tratado e semeado nos meios próprios.

No 60.° dia (20-12) persistiam grandes tumores faciais e foram descobertas placas de alopecia na cabeça e pelo corpo do animal. A baciloscopia dos nódulos continuou positiva até ao 1.° de fevereiro de 1951 e a 19 e 26 do mesmo mês ainda foi colhido material nesses nódulos para bacteriologia. Após 6 meses de repouso fiz-lhe a 6ª inoculação (25-4-51), usando como *inoculum* a 2ª geração da própria retrocultura do rhesus, cepa «E». Ainda desta vez o animal apresentou forte reação. Nos dias 3 e 9 de Maio colhi material, pus e pele, das lesões para bacteriologia. A baciloscopia desse material foi positiva. Após um repouso de 11 semanas, no biotério geral, fiz-lhe a 7.ª inoculação a 14-8-51, com apenas 1 cc. da cultura "E" obtida por passagem no rhesus n.° 3. A reação local e a geral foram ainda bastante intensas e formaram-se três nódulos, na raiz do nariz e regiões malares. A baciloscopia do muco nasal e das fezes desse animal, feita a 28 de Agosto, foi positiva para bacilos a.a.r., como havia sido antes. Extirpei-lhe, então, os três nódulos, cuja baciloscopia foi fortemente positiva. Enviado o material desta 9ª e última biópsia para histopatologia, o relatório da Dra. Rita Cardoso (P.C. 17.351) revelou um granuloma de células epitelioides, com raras células gigantes. Esta tendência à regressão de estrutura semelhante a leproma humano (P.C. 16.398) para granuloma de tipo tuberculoide (PP. CC. 16.792 e 17.351) é muito significativo.

RHESUS N.º 3 — Inoculado a 13-4-50 com 2 c.c. de suspensão da cultura «Emilia», na fronte e regiões malares. No 12º dia apresentava uma *facies lepromatosa* tão caracteristica que, no 15.º dia (28-4-50) mandámos decapitá-lo para conservar a peça no Museu de Patologia do IOC. Desde o 11.º dia da inoculação já o muco nasal e as fezes desse símio estavam positivos para bacilos a.a.r. O exame histopatológico dos tumores da cara do símio (P.C. 16.480) mostrou "um processo agudo hemorrágico-purulento associado a bacilos a.a.r.» e segundo o Dr. Jorge P. Guimarães não semelhante a leproma. Entretanto o mesmo anatomo-patologista examinando novos cortes obtidos de fragmentos da peça do museu conservada em Kayserling há 30 dias, diz: "Verificamos extenso processo inflamatório no derma, em cujas margens existem numerosos macrófagos vacuolados com morfologia que lembra a da celula leprosa.» 7-6-50.

Novos fragmentos dessa péça, conservada em Kayserling há 51 meses (P.C. 19.156), mostraram estrutura histológica bem conservada e um abcesso sub-cutâneo com bacilos a.a.r. Novos cortes do blóco P. C. 16.480, de 30-5-50, corados a 30-12-54 pela HE e pelo ZN e examinados pelo Dr. Eithel Duarte, mostraram a estrutura de granuloma tuberculoide com inúmeros bacilos a.a.r. O mesmo blóco que a 30-5-50 apresentava numerosos macrófagos vacuolados lembrando as celulas leprosas, a 30-12-54 apresentava granuloma tuberculoide com numerosos bacilos a.a.r.

Dois anatomo-patologistas experimentados encontraram nas lesões do Rhesus n.º 3 aquilo que frequentemente se encontra na lepra humana: óra granuloma lepromatoso, óra tuberculoide. Hoje chamam a isso de lepra bipolar.

RHESUS N.º 4 — Inoculado na cara a 13-4-50 com emulsão pobre em bacilos, proveniente de nódulos do rhesus n.º 2 infectado com a cultura "CI" a 22-3-50. Esta "passagem" aparentemente foi negativa até 12-5-50, quando o animal foi inoculado com a retrocultura "CI" obtida da mesma emulsão de 13-4, na dose de 2 cc. nos sobrólhos e regiões malares. Parece que o símio ficou hipersensibilizado com a 1ª inoculação, pois, 24 hs. após apresentava forte tumefacção nos 4 pontos injectados e no 12.º dia (23-5) apresentava 4 grandes nódulos, simulando lepromas flóridos, nos sobrólhos e faces. O pus colhido, então, do nódulo da face direita, revelou abundantes bacilos e globias, confirmados por fluoroscopia fortemente positiva. Nesse mesmo dia o muco nasal e as fezes do símio revelaram bacilos a.a.r.

No dia 25-5 foram extirpados os 2 grandes nódulos malares para bacteriologia e histopatologia, cujos esfregaços corados pelo ZN revelaram inúmeros bacilos e globias. O seu exame histopatológico (P.C. 16.476, de 7-6-50) revelou um processo inflamatório peculiar, por ser constituido predominantemente por macrófagos, sem celulas gigantes nem necrose de caseificação, mas positivo para b.a.a.r. "quadro histológico que não corresponde estritamente ao do granuloma da lepra humana" (Dr. J. P. Guimarães).

Ao 1.º de junho as semeaduras do pus colhido a 23-5 estavam germinando em 6 tubos de Loewenstein. Foram extirpados os 2 nódulos frontais (2.ª biópsia) cujo pus foi fracamente positivo. No 15.º dia da 2.ª biópsia

surgiram 2 pequenos nódulos secundários, do tamanho de lentilhas, na fronte e asa direita do nariz. As feridas das biópsias estão custando a cicatrizar porque o animal arranca e devora as suas crôstas. A baciloscopia do muco nasal feita a 10-8-50, três meses após a inoculação, foi fortemente positiva, como se vê no desenho 5 da Estampa 1. Nesse dia lhe fizemos inoculação de 1,5 cc. da suspensão da sua própria retrocultura, proveniente da biópsia de 25-5-50. No dia seguinte o animal denunciava grande sofrimento e recusou alimento; no 2.º dia apresentou um intenso eritema difuso em toda a cara, o qual persistiu durante 15 dias. A 26 de outubro apresentava um nódulo secundário no sobrolho esquerdo, semelhante a leproma, e estando cicatrizadas as feridas das biópsias, foi inoculado com 2 cc. da emulsão da cultura "CI", retrocultura do rhesus n.º 5, passagem do rhesus n.º 4, sòmente nas regiões malares. Após 48 hs. apresentava EG muito abalado e eritêma difuso em tôda a cara. Muito significativo foi o resultado do exame histopatológico da biópsia de 1.º-11-50 (P.C. 16.783) dum nódulo secundário e de outro de nova infecção. O relatório feito pelo Dr. J. P. Guimarães e controlado pelo Dr. Magarinos Torres (8-12-50) diz em Nota final: «*O quadro histológico apresenta pontos de contacto com a reação leprótica, tipo lepromatoso, descrita em material humano.*» As 5ª e 6ª reinoculações e biópsias não ofereceram mais nada tão importante quanto o que se lê acima.

RHESUS N.º 5 — Inoculado a 25-5-50 nos sobrólhos e regiões malares com 2cc. de suspensão dum tumor do rhesus nº 4, infectado com a cultura "CI", cuja baciloscopia foi positiva 3 +, sòmente no 20.º dia (14-6) mostrou o inicio de nodulações cutâneas. No dia 20-6 foi extirpado o tumor do sobrolho direito, cujos esfregaços revelaram bacilos a.a.r. fortemente fluorescentes e cuja semeadura produziu bôa retrocultura. Re-inoculado, nesse dia, com a retrocultura do rhesus nº 4 originária do rhesus nº 2, nas mesmas regiões ácima, o animal reagiu moderadamente e semeaduras de pus de um dos seus nódulos, feitas a 28-6, a 8-7 começaram a germinar. Com esta sua retrocultura foi re-inoculado no dia 11-8, apresentando, no dia seguinte reação mais intensa que as anteriores, quando também o seu muco nasal foi positivo à baciloscopia e fluoroscopia.

A 26-10 e 20-12 sofreu este macaco mais duas re-inoculações, cujos resultados foram idênticos aos anteriores, porém a 6.ª inoculação, feita a 25-4-51 com a cultura "Maria D." (retrocultura da "CI"), na dose de 1,5 cc., foi a que lhe produziu as mais violentas reações. A 22-5 o símio apresentava vários nódulos secundários, quando foi exibido aos médicos da Secção de Bacteriologia e em seguida biopsiado. Do exame histológico feito pelo Dr. J. P. Guimarães (P.C. 17.071 de 1-6-51) consta granuloma com predominância de macrófagos, algumas células gigantes e leucócitos eosinófilos. Depois dum repouso de 3 meses, no Biotério Geral, foi o rhesus reinoculado a 14-8 com a mesma retrocultura "Ma. D.", apresentando intensa reação local no dia seguinte. A 28-8 foram-lhe extirpados dois nódulos, da fronte e face direita para bacteriologia. O exame histopatológico dum desses nódulos feito pela Dra. Rita Cardoso (P.C. 17.352 de 11-9-51), revelou granuloma com células epitelióides e células gigantes do tipo Langhans, facto de alta importância no tipo de lesão estudada.

Em dezembro de 1954 as retroculturas obtidas deste rhesus, assim como os cortes e esfregaços da fase experimental, apresentavam os mesmos caractéres primitivos.

RHESUS Nº 6 — Tendo verificado que a cultura «Maria D.» era bastante virulenta para o rhesus, inoculei 1,5 cc. dela neste exemplar n.º 6, fêmea adulta, virgem de qualquer experiência anterior, com o fito especial de produzir lepromas para o fabrico de Lepromina. Feitas injecções de 0,5 cc. na fronte e regiões malares a 5-11-51, no dia seguinte já eram vistos grandes nódulos agudos nos três pontos injectados. No 10.º dia (14-11) foram extirpados êsses 3 nódulos, (V. fig. 28, Est. 6) cujos esfregaços foram fortemente positivos para bacilos a.a.r. isolados e em globias intra e extracelulares e feito exame histopatológico (P.C. 17.537).

Com os outros dois nódulos preparei 20 cc. de Lepromina pelo método de Fumio Hayashi, a qual foi empregada em sêres humanos, comparativamente com as Leprominas Hansen e Stefansky, de que darei informes noutro trabalho. No 62.º dia da inoculação extirpei o nódulo residual da fronte do macaco, cujo esfregaço foi negativo para bacilos a.a.r., assim como os cortes (P.C. 17.608, de 23-1-52).

Cerca de 42 meses após a biópsia, re-examinei os córtes do P.C. 17.537: os corados pela HE mostram granulomas em que predominam os macrófagos, e os corados pelo ZN (surpreendentemente bem conservada a coloração!) mostram granulomas pejados de bacilos a.a.r., isolados, em feixes e em globias tanto extra como intracelulares, em macrófagos e leucócitos polimorfocelulares. Estes cortes comparados com os lepromas humanos, flóridos, são indistinguiveis.

RHESUS n. 7 — Este macaco, que servira ao Dr. Henrique Penna para estudos da febre amarela, foi inoculado a 23-4-52 com a cultura de «Jesus» (retrocultura de lesão experimental nele produzida pela inoculação da "CII"), sendo 0,5 cc. da emulsão injectada na fronte e iguais doses nas faces e sob o mamilo direito (pele muito pelada). 4 hs. após as injecções o animal, apezar de grande e forte, pesando 5 kg, apresentou-se muito caído e com intensa inchação na cara e 48 hs. depois havia, nos pontos inoculados da cara, três nódulos avermelhados, do tamanho de grãos de milho. Na 2.ª semana (7-5) havia no peito um empastamento de 2 cms. de diametro e na cara 3 nódulos do tamanho de avelãs, que extirpei duas metades do da fronte e da face direita para bacteriologia, histologia e passagens. Os esfregaços desses nódulos, corados pelo ZN, revelaram bacilos a.a.r. gigantes e granulosos, e de um deles obtive excelente retrocultura. O exame histopatológico (P.C. 17.815) revelou um granuloma igual aos anteriormente descritos com predominância de células plasmáticas, gigantes e grandes células mononucleares vacuoladas, muitas encerrando bacilos a.a.r. Com êste rhesus encerrei esta série de experiências.

Cebus fatuellus ns. 1 e 2 — O Dr. Henrique Penna cedeu-me, gentilmente, um casal de *Cebus* para as minhas experiências. Apezar de serem macacos de pele negra e peluda, de dificil observação, inoculei-os a 26-10-50 cada um com 1 cc. do *inoculum* "CI". Dois meses após, o macho apre-

sentava um nódulo discreto na fronte e a femea nada. A 5-1-51 re-inoculei-os e a 8-1-51 a baciloscopia das fezes de ambos revelou muitos bacilos a.a.r. A 25-1-51 extirpei o nódulo frontal do macho, cujos esfregaços revelaram abundantes bacilos, isolados e em globias, intra e extra-celulares, assim como os cortes histológicos (P.C. 16.905). Tais cortes corados pelo ZN são tão ricos em bacilos quanto os do rhesus n. 6. O Cebus femea não reagiu e sacrificado no 110º dia da 1ª inoculação, todos os exames da sua pele, ganglios e visceras deram resultados negativos.

CONCLUSÕES

1. A inoculação de culturas de bacilos a.a.r. isolados de leprosos produziu na pele glabra de rhesus lesões nodulares semelhantes a lepromas, sem se generalizarem ao tegumento peludo nem às visceras, não obstante a procóce eliminação dos bacilos pelas fezes e pelo muco nasal.

2. A histopatologia desses nódulos mostrou, algumas vezes, estrutura lepromatosa, seguida de tuberculoide nas re-inoculações, o que prova um certo gráu de imunidade.

3. Das lesões primárias os bacilos foram sempre re-isolados, sendo tais retroculturas de regra mais virulentas para os símios que as suspensões dos respectivos tumores.

PROTOCOLOS DAS EXPERIÊNCIAS

RHESUS Nº 2. Macho de 4 meses de idade, pesando 2,5 kg.

22-3-50. 1.ª *Inoculação*: 1,5 c.c. de cultura em caldo glicerinado a 5%, de 29-12-49, da amostra "Chaves", (velha de 80 dias) em partes iguais na fronte e regiões malares, igual dose em cada região malar, por via subcutanea. Esfregaço do *inoculum* +++. Sòmente bacilos ácido-álcool resistentes.

23-3-50. 24 hs. depois: grande reação local, sobretudo na fronte, apresentando-se o animal muito agitado.

24-3-50. O animal continúa muito agitado, aparentando grande sofrimento. Nodulação aguda em cada ponto da inoculação.

25-3-50. O animal está mais calmo. O nódulo da face direita é o maior.

29-3-50. O animal já se alimenta melhor e os nódulos regrediram.

1-4-50. O nódulo da fronte é o mais acentuado.

5-4-50. 14.º dia da inoculação. O animal, apresentando grandes tumores faciais, foi mostrado aos Drs. Magarinos Torres e Arêa Leão e fotografado. A' palpação os nódulos da fronte e face direita apresentam-se duros, do tamanho duma azeitona comum. A pele da face cianótica. O nódulo da face esquerda está achatado, de 2x1 cm de diâmetro, e 1 cm abaixo há um nódulo secundário, cianótico, de aspecto de um leproma humano flórido. No dia 8 os nódulos estavam maiores.

10-4-950. 19º dia da inoculação: 2ª fotografia. 1ª *Biópsia* — Tumor da face direita. Esfregaço +++ Parte do tumor foi tratada e semeada em vários tubos de Loewenstein e o resto foi enviado ao Dr. Magarinos Torres, para exame histopatológico.

P.C. 16.398, de 12-4-50: Pele de macaco "Rhesus" inoculado há 19 dias com a cultura Chaves:" O derma mostra extensa reação inflamatória, na qual tomam parte dominante, grandes células monocucleares (macrófagos), por vezes com vacuolos no citoplasma. Em diversas áreas são encontrados, ainda, leucócitos heterófilos (inflamação purulenta). Nos pontos em que o exsudado é constituido de modo quase exclusivo por macrófagos, nota-se a presença de bacilos ácido-álcool resistentes, contudo, em pequeno número. Uma seme-

lhança microscópica notada entre o presente granuloma e o leproma do homem, são os seus limites nítidos, seguindo-se à zona do granuloma típico uma outra em que o derma conserva estrutura normal. A descrição feita acima, aplica-se aos dois fragmentos enviados.

Manguinhos, 12 de abril de 1950. *Dr. C. B. Magarinos Torres,* Chefe da Divisão de Patologia."

13-4-50. 22.º dia da inoculação. 2.ª *Biópsia* — Feita pelo Dr. Murillo Fontes, usando a Novocaina como anestésico. Foram extirpados dois nódulos da fronte e um da face esquerda. A suspensão de dois desses nódulos foi inoculada no Rhesus n.º 4 e uma parte dela tratada pela soda e semeada em 12 tubos de Loewenstein. O esfregaço do sangue das biópses, corado pelo Ziehl-Neelsen, revelou poucos bacilos a.a.r. Fragmentos da pele circundante desses tumores foram enviados ao Dr. Magarinos Torres, para exame histopatológico.

P.C. 16.406, de 15-4-50. Fragmentos de pele do M. rhesus n.º 2, inoculado em 22-3 com a cultura "Chaves": "O fragmento está revestido por epitélio pavimentoso estratificado, sem particularidades. Profundamente situado no derma, existe um grande nódulo bem circunscrito, constituido por células mononucleares, algumas de citoplasma vacuolado, células fusiformes e linfócitos. Ocasionalmente, notam-se polimorfonucleares. A pesquisa revelou escassos bastonetes ácido-álcool resistentes.

Rio, 20 de dezembro de 1950 — *Dr. Jorge P. Guimarães*".

14-4-50. O animal se ressentiu muito com a biópsia; está comendo pouco, melhorando no dia seguinte.

29-4-50. As feridas estão cicatrizadas. Na região malar esquerda restam dois pequenos nódulos residuais.

29-4-50. 2.ª *Inoculação,* após 5 semanas da primeira, na fronte e face direita, com emulsão, pobre em bacilos, de pus da lesão facial do Rhesus n. 3, inoculado com a cultura "Emilia".

1-5-50. Ausência de reação local. Nalguns tubos de Loewenstein, semeados a 10 e 14-4 com material deste Rhesus (n.º 2), começaram a germinar colónias amarelas, semelhantes à da amostra «Chaves» inoculada. No 5º dia da re-inoculação apareceram excrescências na fronte e face direita. 10-5. Dos 12 tubos de Loewenstein semeados em 14-4 sete apresentam germinação com aspecto da cultura original inoculada.

12-5-50. Exame: à vista e à palpação verificou-se a existencia de dois lepromas nítidos, do tamanho dum grão de milho, nos sobrólhos, e na face direita ligeiro empastamento. Ao retirar o símio da gaiola êle feriu-se na antiga cicatriz da face esquerda, cujo esfregaço revelou alguns bacilos a.a.r.

13.5-50. A inchação da face direita está tomando o aspecto de nódulo; quéda de pelos em redor dos nódulos frontais.

5-6-50. Franca regressão das lesões acima. 20-6-50. O animal aparenta aspecto normal.

20-6-50. 3.ª *Inoculação,* suspensão da retrocultura "Emilia" de 12-6, do Rhesus n. 3 Dose 0,5 c.c. na fronte e iguais nas regiões malares.

21-6-50. O animal apresenta-se muito doente. A reação local foi muito violenta. Ainda a 23-6 o animal apresentava grande abatimento, inapetência e tristeza. As inoculações produziram grandes nódulos, cianóticos. 26-6. Foram tomadas novas fotografias.

29-6-50. Persistem os 4 nódulos, 2 na fronte e 2 nas faces, do tamanho duma avelã, congestos. O estado geral (EG) do animal melhorou. O patologista Dr. Jorge P. Guimarães viu os 3 rhesus inoculados.

30-6-50. O Dr. Arthur Marques Porto, do Serviço de Lepra do Distrito Federal, veiu ver êsses três Rhesus, com facies leprosa.

5-7-50. 3ª *Biópsia* — O Dr. Vianna Dias anestesiou o símio com DIAL Ciba, na dose de 0,5 c.c. por kg. O animal dormiu durante 2 hs. Biopsiei 4 nódulos ulcerados, dando dois ao Dr. Arthur Marques, para os seus estudos. Com pus *in natura* e suspensão do tumor semeei 15 tubos de Loewenstein. O esfregaço do pus de cada lesão revelou muitos bacilos a.a.r. semelhantes aos da amostra "Chaves", alguns ramificados, cuja fluorescência, verificada pelo Dr. Laerte Andrade, foi positiva. Do nódulo enviado à Divisão de Patologia veiu o seguinte resultado:

P.C. 16.559, 6-7-50. Fragmento de pele do macaco rhesus inoculado com a cultura "Emilia".

"O fragmento é revestido por epitélio pavimentoso estratificado, que mostra, em certa altura, destruição e infiltração por leucócitos polimorfonucleares e fibrina (ulceração). No

derma existe um infiltrado celular inflamatório difuso, constituido predominantemente por linfócitos e células mononucleares, algumas de citoplasma vacuolado. Notam-se, ainda, células fusiformes e leucócitos polimorfocelulares. Chama a atenção a presença de hemorragia. A pesquisa de bacilos ácido-álcool resistentes, resultou negativa.

Rio, 20 de dezembro de 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães*".

17-7-50. 4.ª *Biópsia* — Extirpação dum nódulo residual da fronte e de pele da axila, enviados à Secção de Anatomia Patologica, para exame. As fezes eliminadas pelo animal durante a biópsia revelaram alguns bacilos a.a.r. P.C. 16.600 de 17-7-50. Fragmento de pele da fronte (nódulo) do Rhesus n. 2, inoculado com a cultura "Emilia".

"O fragmento é revestido pela epiderme aparentemente normal. No hipoderma aparecem diversos nódulos que correspondem a um processo inflamatório peculiar. As células que o formam, são fundamentalmente grandes, mononucleadas, cujo citoplasma parece continuar-se com fibras, estabelecendo ligações recíprocas entre elas; em outros pontos, tais elementos são obscurecidos em razão da presença de grânulos intensamente corados pela hematoxilina (área de necrose com cariorrexis) ao nivel destes focos, existe acentuada ectasia dos capilares e hemorragia. Ausência de bacilos a.a.r.

Manguinhos, 8 de agosto de 1950 — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

P.C. 16.601 data: 17-7-50. Fragmento de lesão ulcerada da axila do Rhesus n. 2 inoculado com a cultura "Emilia".

"O fragmento compreende músculo estriado e abundante tecido conjuntivo, fibroso, no qual se nota processo inflamatório crônico. A proliferação de fibrócitos e de fibras colágenas, predomina sôbre a infiltração celular. Ausência de bacilos ácido-álcool resistentes.

Manguinhos, 10 de agosto de 1950 — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

10-8-50. Exame do animal: Magro, gânglios impalpaveis, alopecia completa da cauda. O exame do muco nasal, pelo Z-N foi positivo: ++

10-8-50. 4.ª *Inoculação,* 1,5 c.c. de emulsão da própria cultura do animal, obtida de pus tratado pela soda a 7-7, na raiz do nariz e nas regiões malares.

11-8-50. Reação local intensa, com notavel inchação nos três pontos inoculados. O EG do animal é bom e êle está se alimentando regularmente.

12-8-50. O EG do símio é bom apezar da nodulação aguda nos pontos inoculados. A 20-8 os nódulos estavam maiores e se ulcerando.

1-9-50. Todos os três nódulos estão em regressão. O animal foi sangrado, obtendo-se 5 c.c. de sangue para os estudos do Dr. Nicanor Botafogo.

10-10-50. O EG do animal é bom e a pele está cicatrizada.

20-10-50. O símio apresenta aparência normal: 70.º dia da 4.ª inoculação. 5.ª *Inoculação,* 2 c.c. de suspensão da retrocultura "Emilia" obtida de rato branco sacrificado a 10-7-50, nos sobrólhos e regiões malares.

21-10-50. O animal apresenta a cara toda inchada e cianótica e parece sofrer muito. A 24-10 a reação local está mais intensa e já há nodulação nos quatro pontos injectados. Foi tomada fotografia.

26-10-50. O animal apresenta o EG melhor, porém os nódulos maiores.

30-10-50. Apresenta dois grandes nódulos agudos nos sobrólhos, outro na face esquerda e extensos empastamentos em ambas as regiões malares.

3-11-50. As lesões cutâneas aumentaram. A 7-11 foi tomada nova fotografia. O exame do pus que saiu das lesões revelou-se fortemente positivo para bacilos a.a.r. intra e extracelulares idênticos aos da amostra "Chaves I". Parece que a passagem da cultura "Emilia" pelo rato aumentou a sua virulência.

8-11-50. 5.ª *Biópsia*. Foram extirpados, sem anestesia, três nódulos, sendo dois da fronte e um da região malar direita. O esfregaço do pus revelou muitos bacilos a.a.r. intra e extracelulares e o esfregaço da pele em muito menor número. Um nódulo foi tratado para semeaduras, que déram, como de costume, retrocultura. A' Secção de Anatomia Patológica mandei três fragmentos de nódulos, cujo exame se lê no P.C. 16.792 de 9-11-50. Fragmento de pele do Rhesus reinoculado em 20-10-50 com a cultura "Emilia".

"Os preparados microscópicos mostram a epiderme sem alterações dignas de nota. Em tôda a extensão do derma, existe um granuloma inflamatório sob a forma de infiltrados nodulares, constituidos predominantemente por células fusiformes (células epitelioides?) e linfócitos, esboçando uma disposição folicular. Nódulos de maiores dimensões mostram

a zona central necrótica e infiltrado por polimorfonucleares. Pesquisa de bacilos ácido-álcool resistentes, negativa.

Rio, 11 de dezembro de 1950 — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

Infelizmente o melhor material dessa 5.ª Biópsia não foi aproveitado e é extranhavel a ausência de bacilos nos córtes quando os havia em grande abundância nos esfregaços. Diz o relatório acima que foi examinado "um fregmento de pele", e não o nódulo simulando leproma.

10-11-50. 6.ª Biópsia sòmente para bacteriologia.

20-11-50. Colhido pus e examinado, revelou-se positivo ++. Foi tratado e semeado.

20-12-50. Persistem os grandes tumores da face e surgiram placas de alopecia na cabeça e pelo corpo. Semeado um tubo de Loewenstein, com pus escasso mas ainda positivo para bacilos a.a.r. No dia 26 o animal permanecia no mesmo estado.

5-1-51. Ao biopsiar um nódulo secundário da face esquerda do símio, que durou muitos dias e simulava leproma, verifiquei estar o mesmo em regressão. Uma punção do grande tumor da face direita deu abundante pus caseoso, cujo esfregaço corado pelo Z-N revelou raros bacilos. A 26-1 foi colhida nova amostra de pus, que foi tratado pela soda e semeado em 4 tubos de Loewenstein.

1-2-51. O animal foi fotografado de novo. Nova punção do tumor da face direita deu abundante pus caseoso, cujo esfregaço foi fracamente positivo, apezar disso foi o material tratado e semeado em Loewenstein.

10-2-51. Dois tubos de Loewenstein das últimas semeaduras mostram várias colônias amarelas, circulares e esparsas, as quais a 19-2 estavam bem desenvolvidas e com aspecto de pureza.

19-2-51. Colhidas duas amostras de pus, que foram tratadas separadamente e semeadas em 4 tubos de Loewenstein e 3 de caldo glicerinado.

26-2-51. Nova biópsia da lesão da face direita para bacteriologia. O animal foi transferido para o Biotério Geral.

4-4-51. O símio foi de novo trazido para o laboratório em bom EG e com as lesões residuais da cara bastante atenuadas. Permaneceu em repouso por mais 20 dias, perfazendo 56.

25-4-51. 6.ª *Inoculação* — Com 1,5 cc. de suspensão da cultura "Emilia", 2.ª geração de 4-1-51, re-inoculei o animal em dois pontos da fronte e nas regiões malares. No dia seguinte apresentava reação intensa.

28-4-51. Apresenta nodulação franca e a pele rubra.

3-5-51. Nova fotografia. 7.ª *Biópsia* — Material enviado ao Dr. M. Torres. 2.ª Sangria: 3 cc. para o Dr. Julio Muniz. Pus *in natura* semeado em 4 tubos de Loewenstein. Esfregaços corados pelo Z-N e Fontes, positivos. P.C. 17.040 de 3-5-51. Fragmento de tumor do Rhesus inoculado a 25-4-51 com a sua própria retrocultura da amostra "Emilia". "Os preparados microscópicos mostram, em um ponto, solução de continuidade da epiderme (ulceração). No derma e hipoderma existe intensa infiltração celular inflamatória, constituida por grandes células mononucleares (macrófagos) por vezes de citoplasma vacuolizado e leucócitos poliformonucleares, estes últimos em alguns campos se acumulam formando micro-abcessos. Os vasos da região estão dilatados e congestos. Nota-se, ainda, áreas de edema e pequenos focos de hemorragia. Presença de bastonetes ácido-álcool resistentes.

Rio, 29 de maio de 1951. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

9-5-51. Nova biópsia para bacteriologia, de nódulo da face direita. Exame de fezes positivo para bacilos a.a.r. Houve germinação em várias semeaduras.

22-5-51. 8.ª *Biópsia* — Extirpação de nódulos do sobrolho e face do lado esquerdo. Parte do material foi utilizada em semeaduras e parte remetida à Secção de Anatomia Patológica.

P.C. 17.072 de 23-5-51. Fragmento de lesão da face esquerda do Rhesus n. 2, inoculado a 25-4-51 com suspensão da cultura "Emilia" de 4-1-51. Resultado do exame: "Os preparados microscópicos mostram, em um ponto, solução de continuidade da epiderme (ulceração). No derma e hipoderme existe um infiltrado celular inflamatório, constituido predominantemente por grandes células mononucleares (macrófagos) frequentemente de citoplasma vacuolizado, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares. Os vasos da região estão dilatados e congestos, e são frequentes focos de hemorragias. Áreas circunscritas de necrose são também observadas. Não foram vistos bacilos ácido-álcool resistentes.

Rio, 1 de junho de 1951. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

O animal foi remetido para o Biotério Geral para repouso e engórda.

14-8-51. Voltou para o laboratório, em excelente E.G.

7.ª *Inoculação*, 1 cm3 de suspensão da retrocultura "Emilia" do Rhesus n. 3, de Loewenstein de 22-5-50, injectado na fronte e regiões malares.

15-8-51. O animal está deprimido e recusando alimento; apresenta inchação e eritema em toda a cara. No dia seguinte o eritema regrediu e começou a nodulação nos pontos das injecções. A 17-8 essas nodulações tinham o tamanho de azeitonas medianas.

21-8-51. O nódulo da raiz do nariz é o maior e o da face direita supurou. Na face esquerda se formaram dois nódulos, sendo um pequeno, no angulo do olho, parecendo secundário.

24-8-51. O nódulo da fronte está maior e íntegro; os dois das faces estão regredindo, e o nódulo secundário do angulo externo do olho esquerdo cresceu um pouco.

28-8-51. 9ª *Biópsia* — Foram extirpados 3 nódulos, um da fronte e dois das regiões malares. Como hemostático se usou pó de café torrado, que é excelente. O pus que saiu foi semeado *in natura* em dois tubos de Loewenstein e a sua baciloscopia foi positiva, fracamente. As fezes do animal colhidas na ocasião revelaram poucos bacilos. Do fragmento da biópsia remetida à Secção de Anatomia Patológica consta: P.C. 17.351 de 29-8-51. Fragmento de pele do Rhesus inoculado a 14-8 com cultura "Emilia" (retrocultura do Rhesus n. 3). Resultado: «Infiltração do derma por agrupamento de grandes células mononucleares, dotadas de citoplasma abundante e de forma variavel, às vezes formando um retículo. Ao lado dessas células, as quais constituem maioria e têm a morfologia de células epitelioides, notam-se linfócitos, alguns leucócitos polimorfonucleares e raras células gigantes. Epiderme sem alterações. Ausencia de bacilos ácido-álcool resistentes, nos cortes examinados.

Rio, 11 de setembro de 1951 — *Dra. Rita Alves de Almeida Cardoso.*"

11-9-51. As lesões da cara do símio estão quase cicatrizadas. Restam um nódulo na face esquerda e outro menor, secundário, no angulo externo do olho direito.

15-10-51. Exame das fezes negativo para b.a.a.r. O animal apresenta apenas um nódulo residual na face esquerda e foi devolvido ao Biotério Geral para repouso, engórda e posterior utilização para outros fins.

Dezembro, 1954 — Cerca de 50 meses após as experiências, os esfregaços do muco nasal do rhesus 2, da pele da cara do rhesus 4, passagem da infecção do rhesus 2 e do *inoculum* (Cultura «E»), corados pelo Z-N em 10-8-49, 25-5 e 7-7-1950 estavam inalterados, apresentando os bacilos a.a.r. isolados, em feixes, intra e extracelulares. Também estavam inalterados os cortes histológicos das lesões, corados pela H-E.

RHESUS N.º 3 — Macho de 4 meses. 13-4-50. 1.ª *Inoculação* : 2 c.c. de suspensão da cultura "Emilia" em meio de Loewenstein, de 1-4-50 : 12 dias de idade, nos sobrólhos e regiões malares.

17-4-50. Inflamação nodular nos pontos das inoculações.

20-4-50. 8.º dia: Inflamação mais intensa, de coloração avermelhada, simulando uma lepra lepromatosa L3.

24-4-50. 11.º dia: Ao ser laçado o símio, para ser fotografado, arrebentaram-se três tumores da face. Com pipeta estirada colhi pus, que semeei, *in natura*, em 3 tubos de Loewestein. Outra porção, após tratamento pela soda a 10%, semeei em 5 tubos do mesmo meio. Os esfregaços desse material, corados pelo Z-N, assemelham-se a esfregaços de emulsão de leproma. O exame das suas fezes revelou alguns bacilos a.a.r. Os esfregaços do pus do muco nasal e das fezes, examinados no dia 25-4 pelo Dr. Laerte de Andrade, foram positivos à fluoroscopia.

25-4-50. 12.º dia : O símio continúa, apezar da aspiração de pus de três tumores, simulando uma cara lepromatosa L3. (Vide fotos 13 e 14, Estampa 2).

28-4-50. 15º dia: O símio foi decapitado pelo Dr. Murillo Fontes para se conservar a peça no musêu de patologia. Fragmentos de tumor e de visceras, e gânglios, foram enviados ao Dr. Magarinos Torres para o exame histopatológico. Os esfregaços do pus revelaram abundantes b.a.a.r., enquanto que os da pele e dos gânglios, raros.

PP. CC. de 28-4-50. Rhesus N.º 3. Natureza e origem do tecido: P.C. 16.429 : Fragmento de pele da face, em que havia grande tumor; gânglios inguinais e axilares, e testiculos. P.C. 16.430 : Fígado, baço, rim e pulmão. Observação : Rhesus inoculado em 13-4-50 com emulsão de cultura da leprosa Emilia. Resultado do exame anátomo-patológico: "Fragmento de pele (compreendendo a lesão referida na informação). Nota-se um

processo inflamatório agudo purulento-hemorrágico, associado à destruição da epiderme (ulceração). Presença de bacilos ácido-álcool resistentes, no exsudato inflamatório. O exame das visceras, revela hiperemia do fígado e rins, conservando o baço a estrutura normal.

Resumo: O animal apresenta um processo agudo hemorrágico-purulento na lesão cutânea associada à presença de bacilos ácido-álcool resistentes. Não existe granuloma semelhando leproma. Ausência de lesão inflamatória nas visceras examinadas. Manguinhos, 25 de maio de 1950 — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

29-4-50. O pus colhido nos tumores e a suspensão de triturado da pele, foram tratados e semeados em 12 tubos de Loewenstein, um de batata e outro de caldo glicerinados. Os esfregaços foram ++, assim como a fluoroscopia do pus, verificada pelo Dr. Laerte. Tais esfregaços re-examinados 15 dias após (11/5) ainda estavam fluorescentes. 11-5. Alguns tubos de Loewenstein semeados com o pus germinaram, produzindo colonias amarelas. Esta retrocultura foi posteriormente inoculada no Rhesus N.º 2 (14-8-51).

28-5-50. *Necropsia*: Extirpação dum fragmento de pele da lesão frontal da peça conservada durante 30 dias no liquido de Kayserling e enviado à Secção de Anatomia Patologica.

P.C. 16.480 de 30-5-50. Fragmento de pele da cara do Rhesus N.º 3. Resultado do exame anátomo-patológico: "Os preparados compreendem epiderme que não mostra lesões dignas de nota. Na parte profunda do derma, existe extenso processo inflamatório, que parece ter sido apanhado pela biópsia em apenas uma de suas margens. Chama a atenção, nesta zona, a existência de grandes células mononucleares com o citoplasma vacuolado. O retículo interposto entre os vacuolos, cora-se em azul pela hematoxilina. Entre esta extensa área inflamatória profunda da epiderme, nota-se infiltração peri-vascular (linfócitos e macrófagos) no plexo subpapilar. Presença de bacilos ácido-álcool resistentes.

Resumo: Verificamos a existência de extenso processo inflamatório no derma, em cujas margens existem numerosos macrófagos vacuolados com morfologia que lembra a da célula leprosa. Manguinhos, 5 de junho de 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

Em 15-7-1954, ou sejam cerca de 51 meses de conservação do material (cabeça) do Rhesus N.º 3, em liquido de Kayserling, cortei dois fragmentos das bordas de duas lesões faciais, cujos esfregaços revelaram abundantes bacilos a.a.r. Remeti êsse material à Seção de Anatomia Patológica para estudo.

P.C. 19.156 de 15-7-54. Pele da face e da fronte de macaco Rhesus inoculado com lepra pelo Dr. Souza-Araujo. Observação: Conservado durante muito tempo em Kayserling. Resultado: "Os cortes de pele mostram a estrutura histológica bem conservada, bem como os tecidos estão excelentemente corados pela hematoxilina-eosina. No tecido celular subcutâneo existe um grande abcesso mal delimitado contendo leucócitos em desintegração e tecidos necrosados. Presença de bacilos ácido-álcool resistentes nos cortes corados pelo Ziehl. — Rio, 1.º de outubro de 1954. — *Dr. Eitel Duarte.*"

A 30 de dezembro de 1954 re-examinámos o esfregaço do inoculum deste Rhesus (13-4-50) corado pelo Z-N, apresentando massas bem coradas de bacilos finos a.a.r.; os esfregaços de pele e pus da cara corados a 28-4-50 pelo ZN, apresentando bacilos grandes e granulósos bem corados; esfregaço da sua retrocultura corado a 20-6-50 apresentando bacilos de aspecto normal. Novos cortes feitos a 30-12-54 do bloco P.C. 16.480 (fragmento da peça do museu, extirpado a 30-5-50) corados pelo HE apresentam, segundo o Dr. Eitel Duarte, a estrutura de granuloma tuberculoide, e corados pelo ZN apresentam, além de massas fucsinófilas, inúmeros bacilos g.g.v. livres e intracelulares por todo o corte, excepto na epiderme.

RHESUS N.º 4, macho de 1 ano de idade, com 4 kgs.

13-4-50. 1.ª *inoculação*: 3 c.c. de emulsão de 2 nódulos de Rhesus, 2, inoculado a 22-3 com a cultura "Chaves I" e biopsiado hoje. Essa emulsão tinha poucos bacilos. 1.ª *Passagem*.

17-4-50. Aparentemente nenhuma reação.

20-4-50. Até hoje, nada. Mudado do biotério para o laboratório.

1 a 12-5 — Nada aparente, nem à palpação.

12-5-50. 2.ª *inoculação*: 2 c.c. de emulsão da retrocultura "Chaves I" obtida dos nódulos do Rhesus 2, da biópsia de 13-4, sendo 1 c.c. nos sobrólhos e 1 c.c. nas regiões malares.

13-5-50. Tumefação nos 4 pontos inoculados. O animal está bocejando, repetidamente, o que não fazia antes; está triste e inapetente.

23-5-50. 12.º dia: Apresenta 2 nódulos nos sobrólho, dos quais um ulcerado, e outro, bastante maior, em cada face. Colhi pus do nódulo da face direita e fiz dois esfregaços, num deles o Dr. Laerte verificou fluoroscopia positiva tanto em bacilos isolados como em globias. O outro esfregaço, corado pelo Z-N, revelou campos com 3 células, com globias. Os exames das fézes pelo Z-N + e do muco nasal ++. O pus foi semeado *in natura* e tratado pela soda em 8 tubos de Loewenstein. Vide a foto do dia 23-5, n.º 19, Est. 4.

25-5-50. 1.ª *biópsia*: Mediante anestesia geral por injeção na veia safena esquerda de 3,5 c.c. da seguinte fórmula: morfina 4,0; Hidrato de cloral 80,0 e água destilada 400,0 g. O animal dormiu profundamente e o Dr. Murillo Fontes extirpou-lhe os 2 grandes tumores malares (foto n. 20), para bacteriologia e inoculações. Os esfregaços do pus e do tumor, foram fortemente positivos: ++++.

Foram tratados pela soda a 10 % o sangue da ferida, o pus e o triturado dum fragmento do tumor, e semeados 3 tubos de Loewenstein com o sangue, 6 com o pus e 6 com o sedimento do tumor. Fragmento dos 2 tumores foram encaminhados ao Dr. M. Torres, para exame histopatológico.

P.C. n.º 16.476, de 25-5-50: Fragmento de pele do Rhesus n.º 4 inoculado em 12-5, com emulsão de cultura "Chaves".

Resultado do exame anátomo-patológico: "Os fragmentos compreendem a epiderme que não apresenta modificações dignas de nota. Na parte profunda do edema, existe processo inflamatório extenso, no qual aparecem vasos sanguíneos (arteríolas e capilares) regularmente distribuídos, sem indício de nova formação recente. As células do exsudato inflamatório, são dominantemente mononucleares. Em certos campos estão associadas a linfocitos e polimorfonucleares e ainda, em outros campos, predominam os polimorfonucleares (inflamação fibrino-purulenta) por vezes associados a extravasamento de hematias (inflamação purulenta hemorrágica). Ausência de células gigantes e de necrose de caseificação. Pesquisa positiva de bacilos ácido-álcool resistentes.

" Resumo: Verificamos um processo inflamatório com características peculiares devidas à sua constituição por células que são dominantemente macrófagos e a tendência para supuração e hemorragia em áreas circunscritas. O quadro histológico não corresponde estritamente ao do granuloma da lepra observado no homem. — Manguinhos, 7 de junho de 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães.*»

Quando o animal despertou arrancou e comeu os curativos.

1-6-50. 2ª *biópsia*: nódulo da fronte para o Dr. Jorge.

O esfregaço do pus da lesão foi +. Foi feito curativo das feridas da 1.ª biópsia. O animal arranca frequentemente as crostas das lesões e as come. Germinação nos 3 tubos de Loewenstein semeados com pus *in natura* a 23-5 e outros 3 semeados com pus-soda (nestes a germinação é pobre). O animal continua com grandes ulcerações na face.

10-6-50. 15.º dia de biópsia: surgiram 2 nódulos secundários na fronte e asa direita do nariz, do tamanho duma lentilha, semelhantes a lepromas. As úlceras estão custando a cicatrizar. O animal come tudo quanto arranca das ulceras.

14-6-50. No sobrolho direito continúa a crescer uma nodulação.

20-6-50. As úlceras estão quase cicatrizadas.

22-6-50. Os nódulos secundários estacionaram.

10-8-50. Exame do muco nasal: ++++. V. desenho 5, Estampa 1. Cicatrizes lisas; pele de aspecto normal; gânglios impalpáveis. Regrediram todas as lesões.

10-8-50. 3.ª *Inoculação*: 1,5 cc. da emulsão da sua própria retrocultura: da biópsia de 25-5, na raiz e regiões malares.

11-8-50. Aparência de sofrimento; recusando comida, inclusive goiabada de que muito gosta.

12-8-50. Eritêma difuso em toda a face. Estado geral melhor. Essa inflamação durou 15 dias; supuração ocular vários dias; ulceração na face direita e sobrolho esquerdo.

1-9-50. O nódulo do sobrolho esquerdo ulcerou. Exame do pús +. Apareceu um nódulo secundário no sobrolho direito. Baciloscopia da ulceração da face direita: + e do muco +. 1.ª *Sangria*: 5 cc. para o Dr. Botafogo.

30-9-50. Está completamente curado das lesões e biópsias.

8-11-50. Dois nódulos biopsiados dos sobrólhos, apresentando o aspecto de lepromas humanos, foram enviados ao Dr. Jorge Guimarães para exame:

P. C. N.º 16.973 de 8-11-50: Fragmento de pele do Rhesus n.º 5, reinoculado em 26-10-50. Resultado do exame anátomo-patológico: "Os preparados microscópicos mostram a epiderme sem alterações dignas de nota. No derma existe um granuloma inflamatório constituido de grande nódulo formado por células mononucleares de citoplasma vacuolado, células fusiformes e linfócitos. E' intensa a infiltração por leucócitos polimorfonucleares, muitos com cariorrexis e a zona central do nódulo, correspondendo ao bordo do preparado, mostra necróse e hemorragia. Pesquisa de bacilos a.a.r., negativa. — Rio, 11 de dezembro de 1950. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

12-12-50. A semeadura de 7-11 apresenta germinação amarela-punctiforme, sobre toda a superfície do meio de Loewenstein.

20-12-50. Restam pequenas nodulações na fronte.

5.ª *Inoculação*: 0,8 c.c. da suspensão da cultura "L" do doente 16 Mirueira, Recife (de 13-10-50). Essa cultura foi obtida de lesão produzida em cicatriz de Lepromino-reação, d'aí a designação «L», no braço esquerdo do paciente, em cuja coxa direita inoculei a cultura "Emilia", viva.

21-12-50. Reação local intensa; um grande nódulo na face. E.G. regular.

23-12-50. Tornou-se mais intensa a reação local; nódulos maiores. E.G. bom.

26-12-50. Apresenta um grande nódulo pustuloso em cada face. Baciloscopia nas fezes ++, assim como a fluoroscopia.

5-1-51. Apresenta dois grandes nódulos nas regiões malares, o do lado direito já ulcerado. As lesões da fronte estão cicatrizando.

14-2-51. Restam pequeninos nódulos na fronte e um maior na face direita.

26-2-51. Biópsia do nódulo da face direita. Removido para o biotério geral.

4-4-51. Voltou para o laboratório em bom EG. e com as lesões cicatrizadas.

25-4-51. Exame geral do símio: apresenta a pele da face atrofiada e cianótica e alopécia em redór da cara toda.

6.ª *Inoculação*: 1,5 cc. de suspensão da cultura "Chaves I" (retrocultura de Maria Domingas) de 4-1-51, nas faces e sobrólhos.

26-4-51. Reacção local pouco intensa. A 28-4 nodulação mais accentuada.

3-5-51. O símio foi fotografado de frente e de perfil com grande sucesso. O pus colhido num nódulo, cuja baciloscopia foi ++, semeei, *in natura*, em 3 tubos de Loewenstein e 1 de caldo glicerinado.

4-5-51. Biópsia do nódulo da face direita para bacteriologia.

5-5-51. Extirpação dos nódulos da face esquerda e sobrolho e de nódulos secundários, cujos esfregaços foram +++ e por isso remetidos ao Dr. M. Torres.

No mesmo dia o animal foi sangrado, obtendo-se 5 cc. para o Dr. Muniz.

P.C. n. 17.052 de 10-5-51. Fragmentos de nódulos da face esquerda do Rhesus n.º 5, Chiquita, inoculado a 25-4 com cultura de "Maria Domingas" (retrocultura da amostra Chaves I). Resultado do exame anátomo-patológico: "Os fragmentos mostram, em alguns pontos, solução de continuidade da epiderma (ulceração). No derma e hipoderme, existe infiltração celular inflamatória, constituida de grandes células mononucleares (macrófagos) e leucócitos polimorfonucleares. Em alguns campos êstes ultimos predominam, formando micro-abcessos. Os vasos da região estão moderadamente dilatados e congestos. Notam-se, ainda, pequenos focos de hemorragias. Presença de raros bastonetes ácido-álcool resistentes. — Rio, 30 de maio de 1951. — *Dr. Jorge Guimarães*".

P.C. 17.053 de 10-5-11. Nódulo secundário do Rhesus Chiquita, inoculado a 25-4 com cultura de "Maria Domingas". Resultado do exame anátomo-patológico: "O fragmento mostra, em um ponto, solução de continuidade da epiderme (ulceração). No derma e hipoderme, existe infiltração celular inflamatória, constituida por grandes células mononucleares (macrófagos) e leucócitos polimorfonucleares, predominando os primeiros. Notam-se, ainda, linfócitos e células plasmáticas. Presença de bastonetes e granulações ácido-álcool resistentes. — Rio, 30 de maio de 1951. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

22-5-51. Apresenta vários nódulos secundários na face direita. Mostrei o símio aos Drs. Genésio Pacheco, Gobert Costa e Laerte de Andrade. Em seguida extirpei dois nódulos e os remeti ao Dr. Jorge Guimarães para exame.

PP. CC. de 23-5-51. 17.070 e 17.071. Material do Rhesus n. 5 (Chiquita) inoculado com cultura "Maria Domingas" a 25-4-51.

P.C. 17.070. Fragmento de pele do ponto de inoculação. Resultado do exame:

"Os preparados microscópicos mostram a epiderme ulcerada em um ponto. No derma existe um infiltrado inflamatório, constituído por grandes células mononucleares (macrófagos), frequentemente de citoplasma vacuolado, linfócitos e polimorfonucleares. Estes últimos formam, por vezes, micro-abcessos. Situada profundamente na hipoderme, vê-se uma área de hemorragia. Não foram encontrados bacilos ácido-álcool resistentes.

P.C. 17.071. Fragmento de pele (nódulo secundário). "Os preparados microscópicos mostram a epiderme sem alterações. No derma e hipoderme, existem infiltrados celulares, mais ou menos bem circunscritos, constituídos, predominantemente, por grandes células mononucleares (macrófagos) frequentemente com citoplasma vacuolizado, notando-se, ainda, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares. No derma os infiltrados se dispõem, de preferência, junto a folículos pilosos e glândulas sebáceas. Leucócitos eosinófilos e células gigantes, são ocasionalmente vistos. Não foram encontrados bacilos ácido-álcool resistentes. — Rio, 1 de junho de 1951. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

14-8-51. Depois de um repouso de cerca de 3 meses, no Biotério Geral, o símio foi trazido de novo para o laboratório, apresentando apenas lesões residuais na fronte e regiões malares.

7.ª Inoculação: 1,5 c.c. de suspensão da mesma retrocultura de "Maria Domingas", de 4-1-51 (procedente de caldo lactosado de 1-8-50), injectado, em partes iguais na fronte e regiões malares.

15-8-51. Intensa reacção local, com nodulação, nos três pontos injectados.

16-8-51. Os nódulos têem o tamanho de grãos de milho.

17-8-51. Os nódulos estão mais condensados.

21-8-51. Os três nódulos estão do tamanho duma azeitona mediana, supurando.

24-8-51. Os três nódulos continuam supurando.

28-8-51. Extirpei o nódulo da fronte e o da face direita. O pus obtido na ocasião, que se revelou positivo para b.a.a.r., foi semeado, *in natura*, em 2 tubos de Loewenstein. A pele foi enviada à Secção de Anatomia Patológica para exame.

P.C. 17.352, de 29-8-51. Fragmento de pele do Rhesus n. 5 (Chiquita), inoculado a 14-8 com cultura "Maria Domingas". Resultado do exame anátomo-patológico:

"Presença, no derma e hipoderma, de infiltração celular inflamatória descontínua, vendo-se grande número de leucócitos polimorfonucleares, os quais são mais abundantes nas porções mais profundas do derma e no hipoderma; ao lado dos leucócitos, encontram-se grandes células mononucleares, de forma variada e de citoplasma abundante (Células Epitelioides) e células gigantes do tipo Langhans. Epiderme sem alterações. Ausencia de bacilos ácido-álcool resistentes, nos cortes examinados. — Rio, 11 de setembro de 1951. *Dra. Rita Alves de Almeida Cardoso.*"

1-9-51. A cicatrização das feridas das biópsias foi rápida por termos usado como hemostático pó de café torrado. O símio apresenta dois pequenos nódulos secundários no angulo externo do olho direito.

11-9-51. Persistem êsses nódulos. 19-9. Melhor aspecto. A baciloscopia das fezes do animal foi negativa e o Rhesus foi devolvido ao Biotério Geral para futura utilização noutros fins.

RHESUS N.º 6 (Femea adulta). 5-11-51 Inoculado com 1,5 cc. de emulsão da cultura "Maria Domingues" em Loewenstein, de 2-6-51, sendo 0,5 cc. na fronte e igual dose em cada face e na virilha direita, todas as injecções por via sub-cutânea, visando a produção de nódulos para o fabrico de Lepromina.

6-11-51. Apresenta nódulos agudos nos três pontos inoculados. Estado geral aparentemente bom.

13-11-51. Os três nódulos da face estão maiores, endurecidos e o da fronte com pustula central.

14-11-51. 10.º dia da inoculação. Foram tomadas fotografias de cada lado da face e em seguida extirpados os três nódulos, que também foram fotografados. Os esfregaços desses nódulos, corados pelo Z-N se mostraram fortemente positivos: Bacilos a.a.r. isolados, em globias extra e intracelulares, e massas. Bacilos gigantes, granulosos e vacuolados: g.g.v. Do nódulo pustuloso da fronte foi semeado pus, *in natura*, em 2 tubos de Loewenstein, que germinaram, no devido tempo. Um tumor foi enviado à Dra. RITA CARDOSO para histopatologia e com o restante foram fabricados 20 cc. de *Lepromina* para aplicação no homem.

P.C. 17.537, 14-11-51. Rhesus n.º 6. Fragmento de tumor da face. Observação: O animal foi inoculado em 5-11 com cultura ""Maria Domingas".

Resultado do exame anátomo-patológico: "Processo inflamatório agudo purulento extenso, associado à presença de células mononucleares volumosas, contendo notavel quantidade de bacilos ácido-álcool resistentes. Êstes germens também são encontrados no citoplasma de leucócitos polimorfonucleares. — Rio, 23 de janeiro de 1952. *Dra. Rita A. A. Cardoso.*

15-11-51. Esfregaços de pus das feridas das biópsias, corados pelo Z-N e pelo "F", foram positivos. Tratado êsse pus pela soda a 10%, foi o seu sedimento semeado em 4 tubos de Loewenstein, 1 de caldo e outro de batata glicerinados. Houve germinação mais ou menos extensa, idêntica à cultura original, tanto desse pus como da emulsão de tumor tratada pela soda a 17-11-51.

24-12-51. As feridas das biópsias estão cicatrizadas e o símio apresenta uma extensa nodulação secundária, de 1,5 cm. de extensão, no sobrolho direito.

4-1-52. 62.º dia da inoculação. As cicatrizes da face estão quase perfeitas. Extirpei o nódulo residual da fronte, cujo esfregaço, corado pelo Z-N foi negativo. Esse material foi remetido à Secção de Anatomia Patológica, para estudo.

P.C. 17.608, 4-1-52. Rhesus n.º 6. Biópsia da pele. Animal inoculado há 60 dias com cultura «Maria Dominguas». Resultado do exame anátomo-patológico: «Nos córtes corados pela hematoxilina-eosina, em ponto circunscrito, vê-se solução de continuidade da epiderme, a cujo nível existe acúmulo de leucócitos polimorfonucleares. Em continuidade com essa região (ponto de inoculação?), encontra-se zona de necrose do derma, associada à intensa infiltração por leucócitos polimorfonucleares. Em torno dessa zona, nota-se proliferação de fibrócitos e de vasos sanguíneos. Em fócos isolados, aparecem grandes células mononucleares, dotadas de citoplasma abundante, muitas vezes vacuolado, ao lado de linfócitos e leucócitos polimorfonucleares. Ausência de bacilos ácido-álcool resistentes nos córtes corados pelo método de Ziehl-Neelsen. — Rio, 23 de janeiro de 1952 — *Dra. Rita A. A. Cardoso.*"

10-1-52. O símio foi transferido para o biotério geral para engorda e posterior uso para outros fins.

RHESUS N.º 7 — Femea de 5 kg., número 5.030, cedido por Dr. Henrique Penna.

23-4-52. Inoculado com 2 c.c. de suspensão da cultura "Jesus" (retrocultura da amostra "Chaves II"), de Loewenstein de 1-2-52, sendo 0,5 cc. na fronte e igual dose nas regiões malares e mamilo direito, todas por via subcutânea. A pele do peito é muito peluda. 4 horas após as injecções o animal se apresentou muito caído, com intensa inchação nos pontos inoculados. 48 hs. após apresentava na face 3 nodulos agudos, avermelhados e do tamanho de grãos de milho.

3-5-52. Nodulação franca nos 3 pontos da face, tumores de tamanho variando entre grão de feijão e de milho; face eritematosa e infiltrada. O animal foi mostrado hoje ao Prof. Dr. Mario Malfatti, de Buenos Aires.

7-5-52. Após exame e palpação das lesões o animal foi fotografado. Os nódulos da fronte e das regiões malares têem o tamanho de avelãs. O eritema se amainou; os nódulos teem consistência dura. No peito, ao lado do mamilo direito a lesão consiste num empastamento duro, de 2 cm. de diâmetro.

7-5-52. Para estudo bacteriológico e histopatológico extirpei metade do nódulo da fronte e do nódulo da face direita. Os esfregaços desse material, corados pelo Z-N, revelaram bacilos a.a.r. gigantes e granulosos. Suspensões das duas amostras de tumores foram inoculadas em murídeos. A emulsão tratada pela soda foi semeada em 5 tubos de Loewenstein e um de caldo glicerinado.

P.C. 17.815, 7-5-52: Rhesus n.º 7. Fragmento de tumor do lado direito da face. Animal inoculado a 23-4-52 com cultura "Jesus", sub-strain "Chaves II". Resultado do exame anátomo-patológico: "Intensa infiltração do derma e da hipoderma por linfócitos, células plasmáticas, células gigantes e, em maioria, grandes células mononucleares, de citoplasma vacuolado, muitas das quais encerram bacilos ácido-ácool resistentes, longos, vacuolados e granulosos. Epiderme sem alterações importantes.

Rio, 28 de maio de 1952. *Dra. Rita A. A. Cardoso.*"

10-5-52. O tumor da face esquerda está maior e é formado por dois nódulos do tamanho duma avelã, avermelhados. As feridas das duas biópsias estão cobertas de crôstas.

15-5-52. Estão supurando os dois grandes nódulos da face esquerda e do peito, que não foram biopsiados. Colhido e semeado *in natura* êsse pus no meio de Loewenstein, a 5-6-52 apresentava franca germinação em 3 tubos, de aspecto semelhante à cultura "Chaves II" original.

17-2-54. A cultura obtida da biópsia acima está ótima e foi repicada.

Cebus fatuellus N.º 1. Macho caréca, n.º 29.905 do Laboratório Rockefeller. 26-10-50 — Inoculado com 1 c.c. de suspensão em sôro fisiológico da cultura "Chaves I", retrocultura do Rhesus n.º 4 e passagem do Rhesus n.º 2, original de 25-5-50. Injectado em partes iguais na fronte e regiões malares. Êste símio apresenta a pele negra e peluda, de difícil observação. 20-12. Nascendo pelos na cabeça. Apresenta um nódulo na fronte e completa cicatrização dos pontos de inoculações nas faces.

5-1-51. Re-inoculado, nas mesmas regiões anteriores, com 1 cc. da mesma cultura acima.

8-1-51. Exame das fezes: positivo para bacilos a.a.r. Apresenta um nódulo do tamanho duma pequena azeitona no lado direito da fronte.

25-1-51. Biópsia do nódulo frontal, que apresenta o aspecto macroscópico de leproma, e mostra alopécia em redór. Metade do tumor e um fragmento de pele do peito (zona de alopécia) enviados à Secção de Anatomia Patológica para estudo. Os esfregaços do nódulo, corados pelo Z-N são ricos em b.a.a.r. e globias intra e extracelulares. Inúmeras células com globias. Nos esfregaços os bacilos afectam o tipo g.g.v. da cultura "Chaves I."

P.C. 16.905, 27-1-51. Cebus macho. Tumor da fronte e fragmento de pele da alopécia do peito. Observações: Animal inoculado a 26-10-50 e re-inoculado a 5-1-51 com a cultura "Chaves I", de Rhesus.

Resultado do exame anátomo-patológico: «Os preparados microscópicos mostram, em alguns pontos, solução de continuidade da epiderme (ulceração). No derma e hipoderma existe intensa infiltração celular inflamatória, constituida, predominantemente, por grandes células mononucleares (macrófagos) e leucócitos polimorfonucleares, assumindo êstes últimos, frequentemente, uma disposição peri-vascular. Os vasos da região estão dilatados e congestos, e são vistos pequenos fócos de hemorragia. Presença, em grande abundância, de bacilos ácido-álcool resistentes, principalmente intracelulares. Rio, 30 de maio de 1951. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

O triturado do tumor, semeado *in natura* a 21-1 a 29-1 estava contaminado.

A 13-2-51 foi sacrificado o Cebus para estudo das visceras. Não havia nada anormal.

Cebus fatuellues N.º 2. Femea N.º 29.907 do Laboratório Rockefeller. Cedido, como o 1.º, pelo Dr. Henrique Penna.

26-10-50. Inoculado com 1 c.c. de suspensão da cultura "Chaves I" passagens dos Rhesus 2 e 4, de 25-5-50, nas regiões malares; pele negra e peluda.

20-12-50. Até agora o animal não apresentou sinais de doença.

5- 1-51. Foi re-inoculado com a mesma cultura na fronte e regiões malares, como sempre por via sub-cutânea.

8-1-51. Exame das fezes: positivo para bacilos a.a.r.

14-2-51. Sacrificada, mediante injecção de cloroformio nos pulmões. Necropsia: Cortados fragmentos de pele da fronte, face, ganglios axilares, crurais, inguinais e sub-maxilares, fragmentos dos pulmões, fígado, baço, pancreas, rim esquerdo e testiculo esquerdo. Tudo negativo, no 110.º dia da 1.ª inoculação.

LEPRA EXPERIMENTAL EM MACACOS

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

ESTAMPA 1

Figs. 1 e 1a — Cultura «Chaves I» obtida em 1949 da pele do leproso J. L. Chaves.

Fig. 2 — Desenho de esfregaço de pele do Rhesus 2 inoculado com a cultura «Chaves I». Coloração pelo Ziehl-Neelsen, 25-5-50.

Fig. 3 — Esfregaço da retrocultura do Rhesus 2, corado pelo «Fontes».

Fig. 4 — Esfregaço de pus do tumor do Rhesus 4 (passagem da infecção do Rhesus 2). Biópsia de 25-5-50 e coloração pelo Z-N.

Fig. 5 — Esfregaço do muco nasal do Rhesus 4, em 10-8-50, após três meses de incubação. Tanto êsse muco como as fezes do Rhesus 4 foram positivos à Fluoroscopia.

Fig. 6 — Esfregaço da retrocultura do Rhesus 4 (passagem da infecção do Rhesus 2), que serviu para infectar o Rhesus 5. Corado pelo Z-N.

Fig. 7 — Esfregaço de pus da lesão cutânea do Rhesus 5 (passagem da infecção do Rhesus 4), corado pelo Z-N, em 28-6-50.

Fig. 8 — Esfregaço da cultura "Emilia" que serviu para infectar o Rhesus 3, corado pelo Z-N.

Fig. 9 — Esfregaço da cultura «Emilia» corado pelo método de Fontes.

Fig. 10 — Esfregaço da cultura «Maria Domingas» (4a. retrocultura da amostra «Chaves I»), que serviu para infectar o Rhesus 6, em 5-11-51.

EXPLANATION OF THE FIGURES

PLATE N. 1

Figs. 1 and 1a — "Chaves I" strain obtained in 1949 from skin lesion of the leper J. L. Chaves.

Fig. 2 — Drawing of smear of skin lesion of Rhesus 2, inoculated with «Chaves I» strain, stained by Ziehl-Neelsen method, in 25-5-50.

Fig. 3 — Smear of the retroculture from Rhesus 2 stained by "Fontes".

Fig. 4 — Smear from pus of tumor of Rhesus 4 (passage from Rhesus 2 infection), biopsied in 25-5-50, stained by Z-N.

Fig. 5 — Smear from nasal mucus of Rhesus 4 (passage from Rhesus 2) on Aug. 10,50, after 3 months incubation. Both nasal mucus and feces of this Rhesus 4 were positive to fluoroscopy.

Fig. 6 — Smear from retroculture of Rhesus 4 (passage from Rhesus 2), which was used to infect Rhesus 5. Stained by Z-N.

Fig. 7 — Smear of pus from cutaneous lesion of Rhesus 5 (passage from Rhesus 4 infection), stained by Z-N, on June 28th, 50.

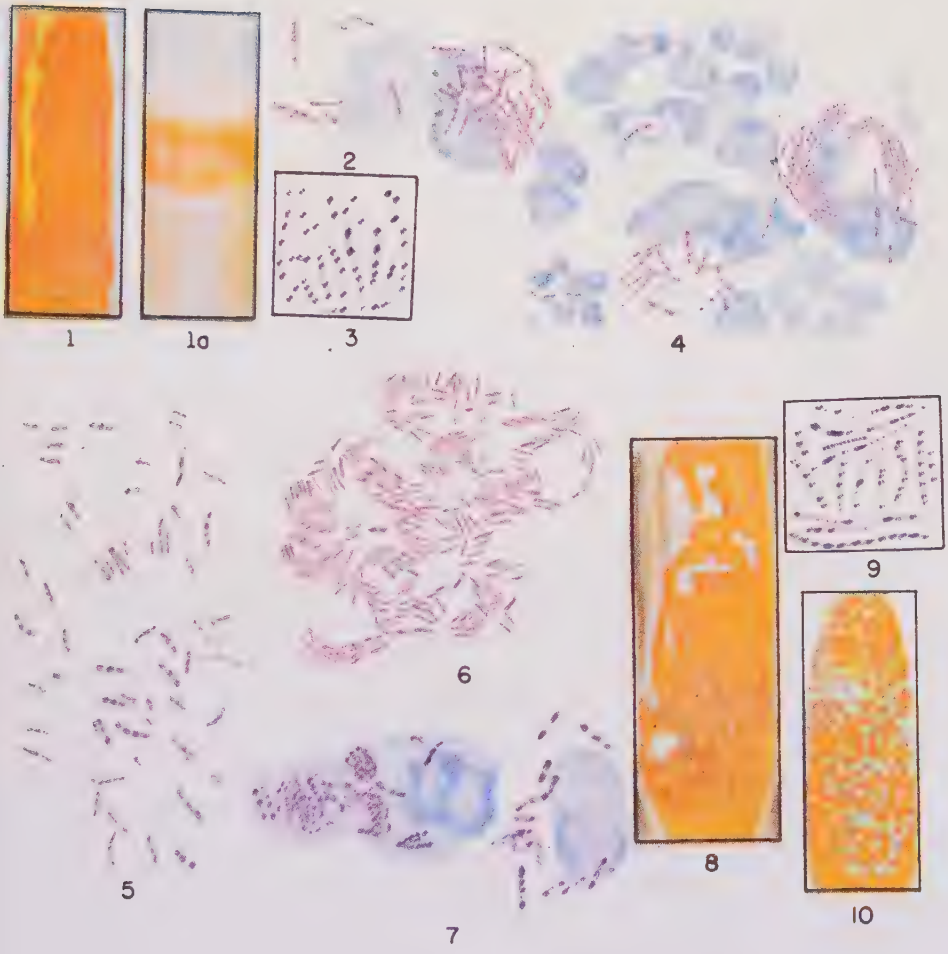
Fig. 8 — Smear of «Emilia» strain culture which was used to infect the Rhesus 3, stained by Z-N.

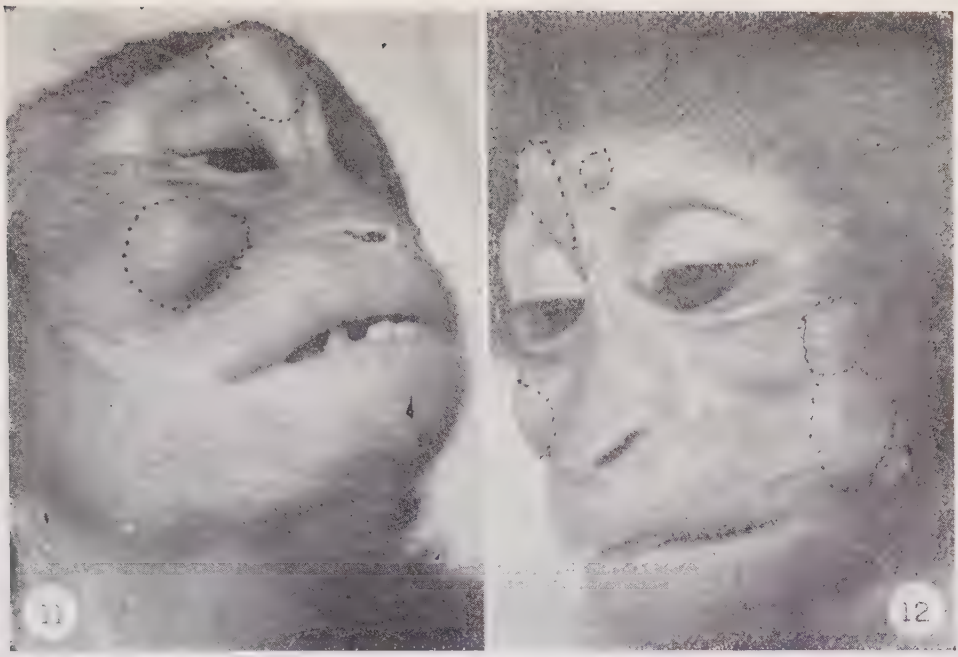
Fig. 9 — Smear of the «Emilia» culture stained by «Fontes» method.

Fig. 10 — Smear of the «Maria Domingas» strain (4th retroculture from the «Chaves I» strain), which was used to infect Rhesus 6, on 5-11-51.

ESTAMPA 1

PLATE N.° 1



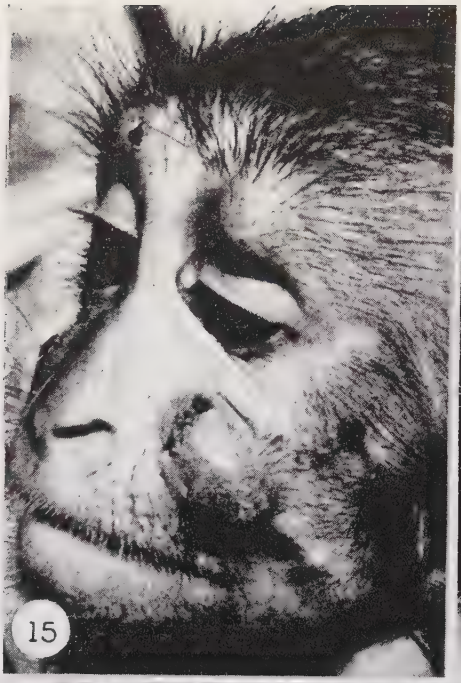


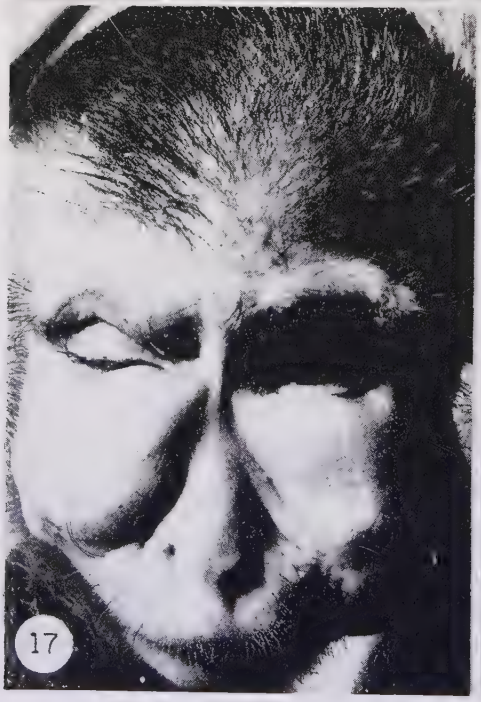
Fotos 11 e 12. Rhesus 2 infectado a 22-3-50 com a cultura «Chaves I». 14º dia de incubação. Com dois nódulos metastáticos. Da biópsia do 22º dia se obteve retrocultura.

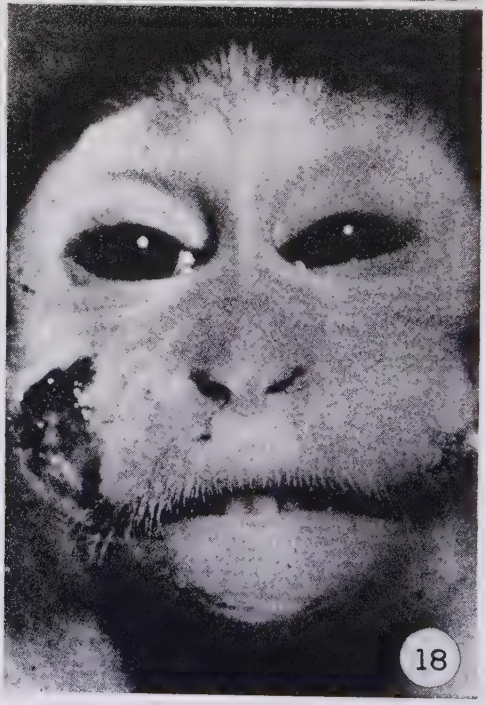
Fotos 11 and 12. Rhesus 2 infected on March 22-50 with «Chaves I» strain, taken on 14th day incubation. See two metastatics nodules. From biopsy of April 13 (22th day) was obtained retroculture.

Fotos 13 e 14. Rhesus 3 inoculado a 13-4-50 com a cultura «Emilia», tomadas no 12º dia de incubação. Decapitado a 28-4-50.

Photos 13 and 14. Rhesus 3 inoculated on April 13-1950 with «Emilia» strain, taken on 12 day incubation. Decapited on April 28-50.



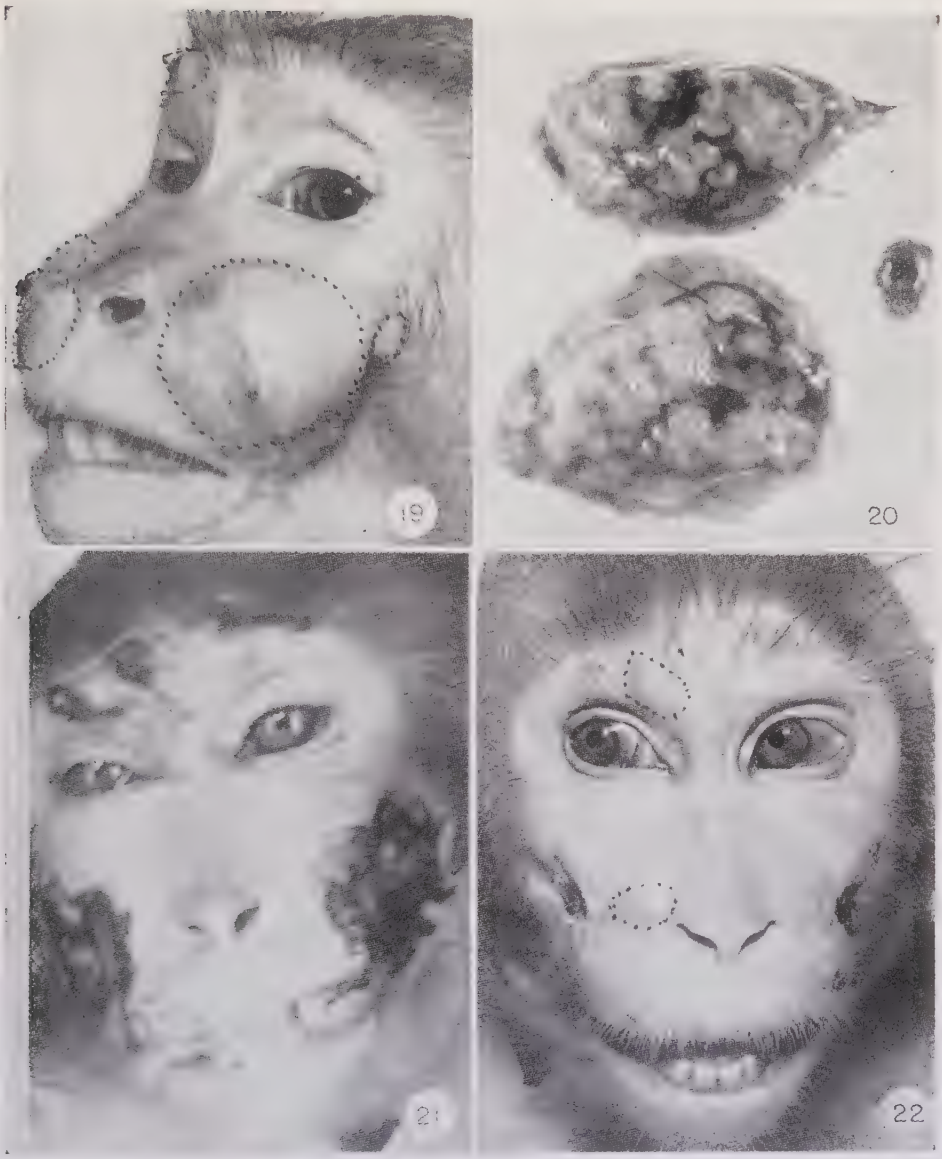




Fotos 15 e 16. Rhesus 2 (2ª fase) inoculado a 26-6-50 com a cultura «Emilia». Biópsia no 15º dia, a 5-7-50.
Foto 17. Rhesus 2 no 46º dia de incubação da infecção pela retrocultura de rato da amostra «Emilia».
Foto 18. O mesmo no 95º dia de incubação, cuja biópsia ainda deu retrocultura.

Photos 15 and 16. Rhesus 2 (2nd phase) ou 15th day after inoculation with «Emilia» strain and after biopsy.
Photo 17. The same after 46 days of inoculation with retrocultura from rat infected with «Emilia» strain.
Photo 18. The same after 95 days incubation, when still gave retroculture.

ESTAMPA 4



Fotos 19 e 20. Rhesus 4 infectado por passagem do Rhesus 2 no 13º dia de incubação (25-5-50), quando lhe foram extirpados os 3 tumores, que deram retrocultura idêntica à amostra «Chaves I».

Fotos 21 e 22. O Rhesus 4 no 7º e 15º dias após as biópsias. A foto 22 mostra 2 nódulos secundários.

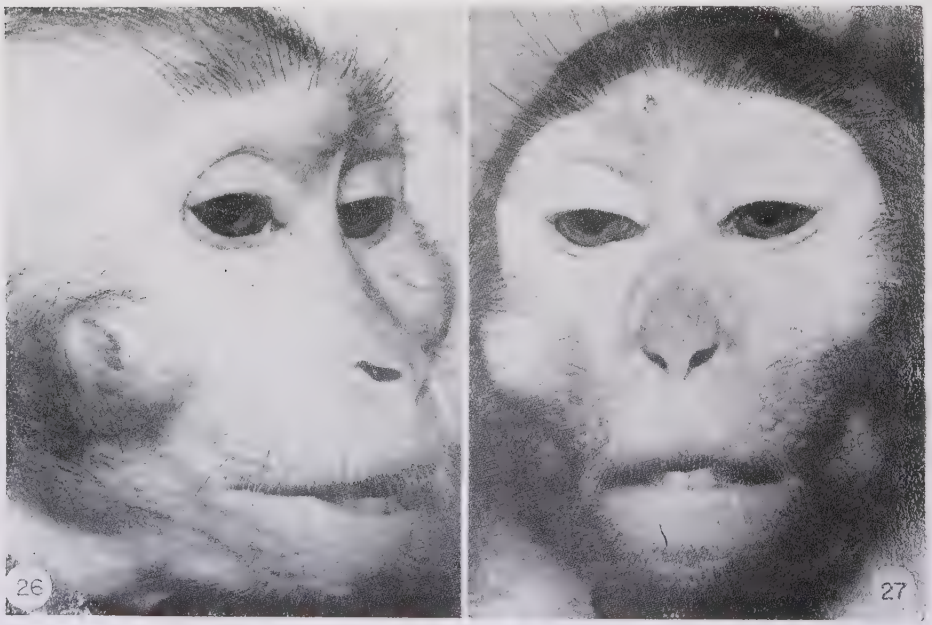
Photos 19 and 20. Rhesus n. 4 infected by passage from Rhesus n. 2 at the 13th day of incubation (25-5-50) when where extirpated the three tumors, which gave subculture (Strain Chaves I).

Photos 21 and 22. Rhesus n. 4 and 15th days after biopsies. N. 22 chows two secondary nodules.

ESTAMPA 5

Fotos 23 a 25. Rhesus 5 inoculado com a cultura «Maria Domingas» (4ª retrocultura da Chaves I) a 25-4-51. Seu aspecto no 9º e 23º dias de incubação. O animal mostrou-se hipersensibilisado.

Photos N. 23 to 25. Rhesus n. 5 inculated with «Maria Domingas» culture (4th retroculture from Chaves I). at 9th and 23th days of incubation. The monkey was hipersensitized.



Fotos 26 e 27. Rhesus 6 inoculado a 5-11-51 com a cultura «Maria Domingas», no 9º dia de incubação quando lhe foram extirpados os tumores para fabrico de lepromina.

Photos 26 and 27. Rhesus n. 6 inoculated on 5-11-51 with «Maria Domingas» strain, at 9th day incubation when its tumors were extirpated for preparation of Lepromin.

ESTAMPA 6

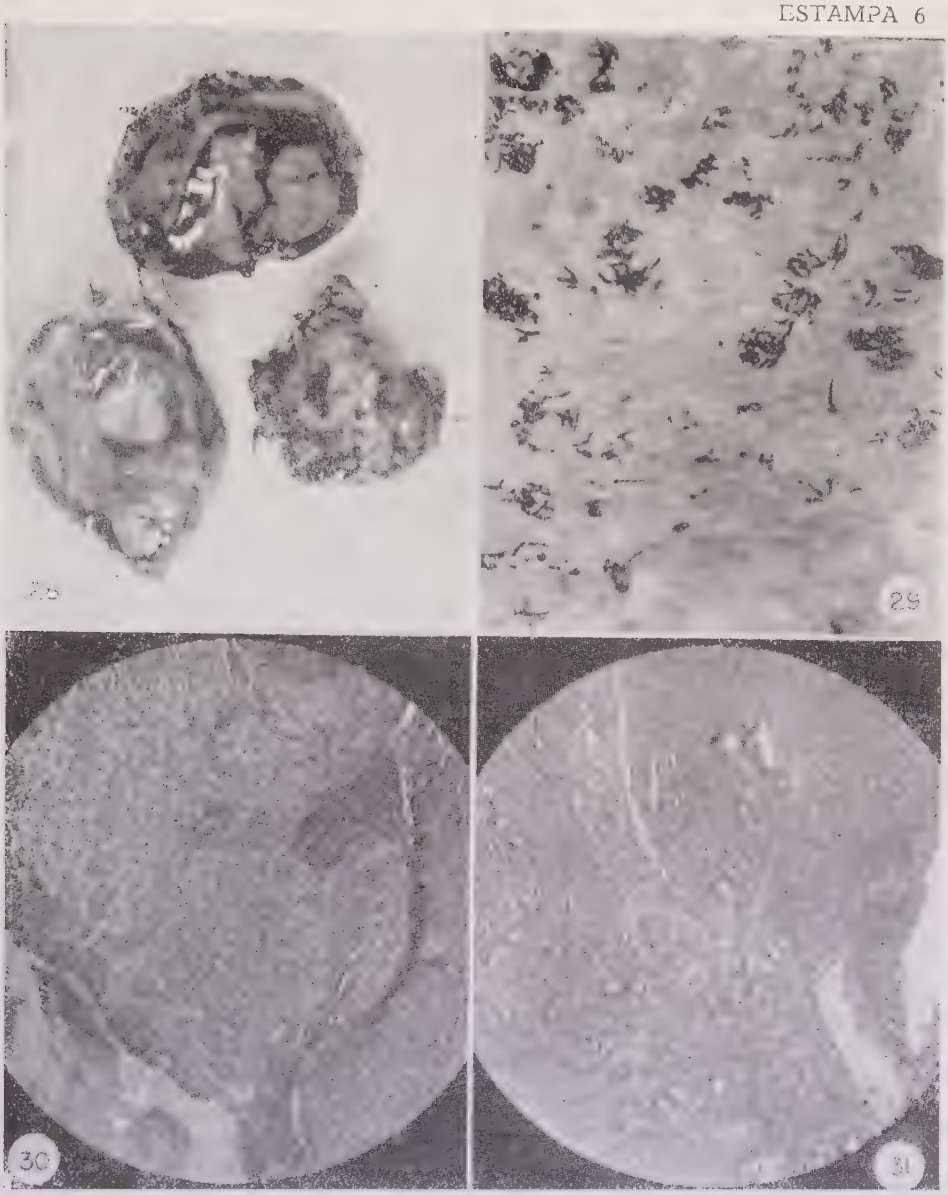
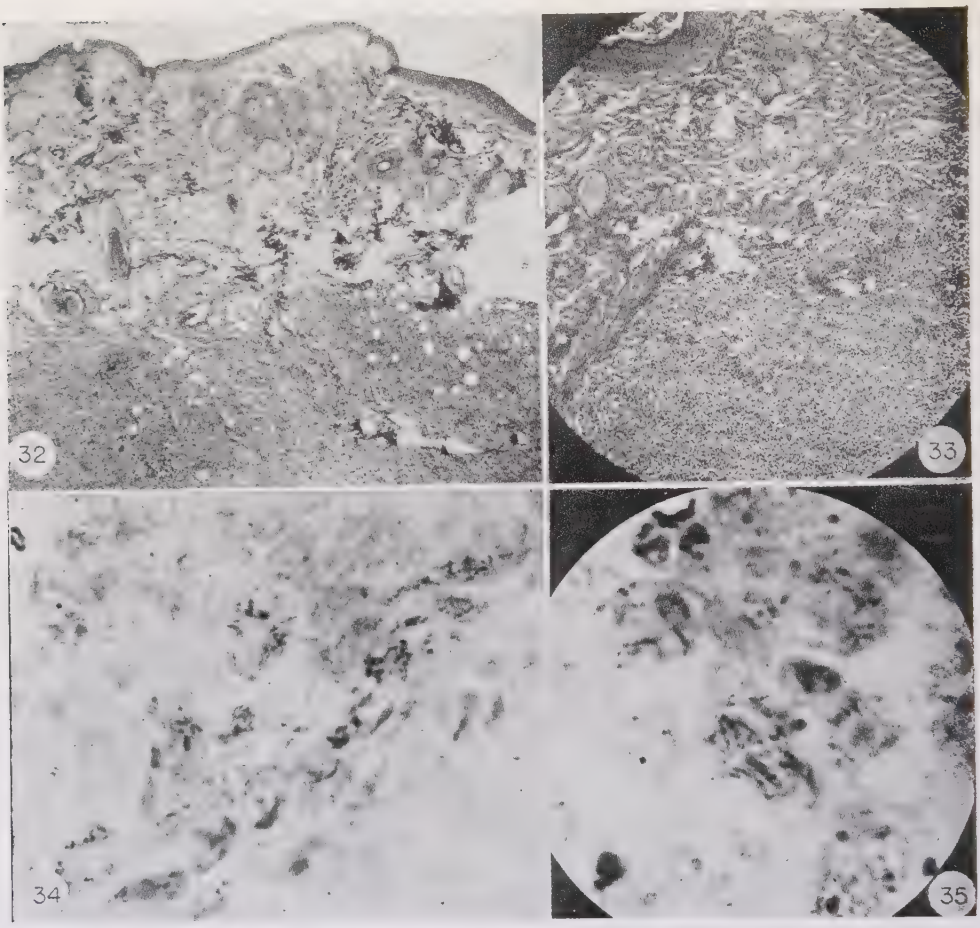


Foto 28. Tumores extirpados do Rhesus 6 a 14-11-51, utilizados no fabrico de Lepromina. Fotomicro 29. Corte dum tumor da foto 28 pelo Ziehl-Neelsen mostrando bacilos a. a. r. intra e extracelulares. 1200x. Fotomicros 30 e 31. Cortes das biópsias do Rhesus 6 no 9º e 60º dias de incubação, corados pela Hematoxilina-Eosina mostrando granulomas. 128x.

Photomicro 29 Section of one tumor of photo 28 stained by Ziehl-Neelsen, showing many acid-fast bacilli. Photomicros 30 and 31. Sections of biopsies from Rhesus n. 6, performed on its 9th and 60th days of incubation Photomicros 30 and 31. Sections of biopsies from Rhesus n. 6, performed on its 9th and 60th days of incubation stained by Hematoxylin-Eosin, showing granulomas. 128x.

ESTAMPA 7



Fotomicros 32 e 33. Cortes de nódulo facial do Rhesus 2 inoculado a 22-3-50 com a cultura «Chaves I», corados pela Hematoxilina-Eosina, mostrando granulomas (45x e 128x) que o Dr. Torres achou semelhantes ao leproma do homem (P.C. 16.398).

Fotomicros 34 e 35. Cortes de nódulo facial dum *Cebus fatuellus* inoculado a 26-10-50 com a retrocultura do Rhesus 4, passagem do Rhesus 2, biopsia de 25-1-51. Corados pelo Ziehl-Neelsen mostrando abundantes bacilos a.a.r. (P.C. 16.905).

Photomicros 32 and 33. Sections of facial tumor of Rhesus n. 2 inoculated on 22-3-50 with strain «Chaves I», stained by H. E. showing granulomata (45x and 128x) which Dr. Torres considered as similar to human leproma.

Photomicros 34 and 35. Sections of facial nodule of *Cebus fatuellus* inoculated on 26-10-50 with retroculture of Rhesus n. 4. Biopsy of 25-1-51. Stained by Ziehl-Neelsen method showing abundant acid-fast bacilli. 1200x.

Fotomicros de Miguel Cesar.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

ESTAMPA 8

1° Lado esquerdo: *Rhesus 1* inoculado com a cultura «Hecke» (20° dia): Estampa com 5 figuras coloridas, no centro um tubo de Loewenstein com a cultura original, 13-7-49. À esquerda esfregaço de pús do Rhesus acima, 1.300 x: massa de bacilos a.a.r.; e em baixo círculo com 4 bacilos, 1 bipolar, 2 com 3 nódulos, nas extremidades e centro e o 4.° com 4 grânulos. Aumento 7.000x. Do pús do Rhesus obtive a 2.ª retrocultura: esfregaço de bacilos granulosos pelo Ziehl-Neelsen 1.300x e em baixo os mesmos a 7.000x (germens idênticos aos do pús).

Figura 1a colorida, do mesmo Rhesus, no 20° dia de incubação, apresentando os nódulos da fronte e face esquerda, tendo ao seu lado uma fotografia confirmativa.

2° Lado direito: *Rhesus 3* inoculado com a cultura «Emilia» (11° dia): figura colorida mostrando os 4 nódulos da cara do animal, 2 na fronte e dois nas faces. Em baixo uma estampa colorida com 5 figuras: no centro 1 tubo de Loewenstein com a cultura amarela obtida do pús do Rhesus 3, inoculado. À esquerda esfregaço do pús que deu essa retrocultura 1.300x e em baixo 3 bacilos granulosos (cocótrices com 5 e 6 grânulos). À direita do tubo esfregaço da retrocultura, pelo Ziehl-Neelsen a 1.300x e desenho de 4 bacilos granulosos 7.000x.

2a estampa do Rhesus (11° dia) com nódulos na fronte e faces e a fotografia à esquerda confirmando essas lesões.

3° Em baixo do quadro: 3 estampas coloridas, nos extremos as figuras de frente e de perfil esquerdo do Rhesus 2 inoculado com a cultura «Chaves», no 19° dia de incubação. Acima da figura direita, uma fotografia confirmativa. No centro, uma estampa colorida com 5 figuras: à esquerda círculo representando o esfregaço da pele do tumor do Rhesus 2: bacilos granulosos 1.300x e círculo com 4 bacilos com condensações em barra 7.000x. No centro 1 tubo de Loewenstein com a cultura amarela obtida da emulsão do tumor do Rhesus 2: Biópsia de 13-4-50. À direita esfregaço pelo Ziehl-Neelsen da retrocultura 1.300x: bacilos idênticos ao da cultura original: a.a.r. granulosos. Do mesmo esfregaço em baixo um círculo com 5 bacilos, todos bipolares, 7.000x.

EXPLANATION OF THE FIGURES

PLATE N. 8

1. *Left side*: *Rhesus N. 1,* inoculated with the «Hecke» culture (20 days old): plate with 5 color figures, in the center a tube of Loewenstein medium with the original culture of July 13th 1949. On the left side, pus smear from the above Rhesus, 1.300x: bundle of a.a.f. bacilli; at the bottom, a circle with 4 bacilli, 1 bi-polar, 2 with 3 nodules — at the extremes and center —, and the 4th with 4 granules, 7000x. From the pus of Rhesus No. 1 there was obtained the 2nd retroculture: smear of granulated bacilli by Ziehl-Neelsen, 1300x, and at the bottom, the same again, 7000x (germs identical to those of the pus). Fig. No. 1a color, from the same Rhesus, on the 20th day of incubation, showing the forehead and left cheek nodules, with a confirmative photo.

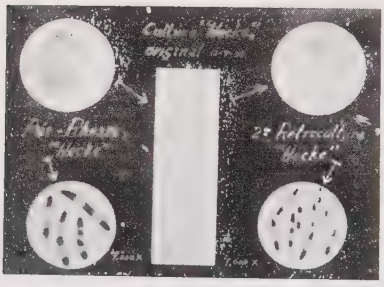
2. *Right side*: *Rhesus N. 3* inoculated with the «Emilia» culture (11th day): figure in color, showing 4 tumors, 2 on forehead and 2 on the cheeks. On the lower part, a color plate, with 5 figures: in the center, one tube of Loewenstein medium with yellow culture obtained from the pus of Rhesus No. 3, inoculated. On the left, a pus smear from this retroculture 1300x and, on the lower part, 3 granulated bacilli (coccotrices with 5 and 6 granules). On the right of the tube, a smear of the retroculture, by the Z-N method, 1300x, and a drawing of 4 granulated bacilli, 7000x 2a plate of Rhesus (11th day), with nodules on the forehead and cheeks and, on the left, a confirmative photo of these lesions.

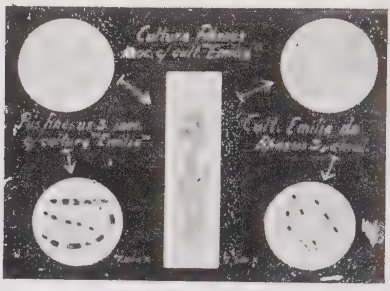
3. *Lower portion of the plate*: 3 color plates, at the 2 extremes, front and left profile of Rhesus No. 2, inoculated with the «Chaves» strain, on the 19th day of incubation. Above, a confirmative photo. In the center, a color plate with 5 figures: on the left, a circle representing the smear of a skin tumor of Rhesus No. 2: granulated bacilli, 1300x, and another circle with 4 bacilli with protoplasma condensations, 7000. In the center, one tube of Loewenstein medium, with a yellow culture obtained from the emulsion of the tumor of Rhesus No 2: biopsy from April 13th, 1950. On the right, a smear stained by the Z-N method, of the retroculture, 1300x: bacilli are identical to those of the original culture: granulated a.a.f. Below, from the same smear, a circle with 5 bacilli, all of them bipolar, 7000x.

ESTAMPA 8

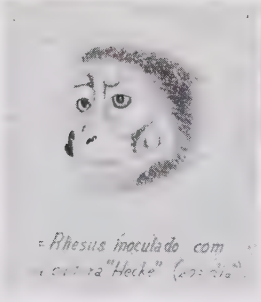
1º

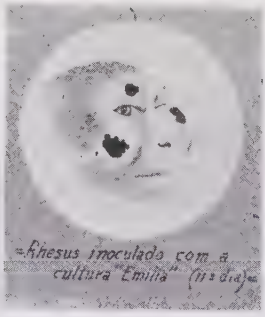
2º



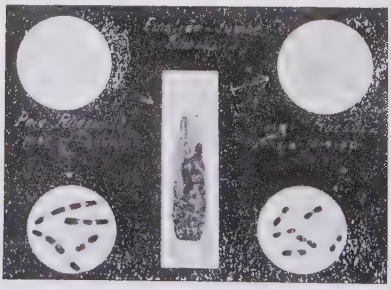


1a.





2a.



3º

3a.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

ESTAMPA 9

4º *Rhesus* inoculado com retrocultura do Rhesus 2 («Chaves»), 12º dia. Passagem do Rhesus 2 ao Rhesus 4. É uma estampa colorida mostrando o Rhesus 4 com 2 grandes tumores nas faces e 2 menores nos sobrólhos. Em baixo dessa estampa outra com 5 figuras: À esquerda esfregaço de pús de rato inoculado com a cultura «Chaves», corado pelo Ziehl-Neelsen, mostrando bacilos granulosos, alguns cocótrices; e em baixo dêsse círculo outro representando 4 bacilos do mesmo material 7.000x, todos com duas a 4 granulações, das quais algumas em barra.

No centro 1 tubo de Loewenstein com 2/3 de cultura amarela, de pús-soda de tumor de Camundongo. À direita, em cima, um círculo com esfregaço da cultura dêsse tubo, corado pelo Ziehl-Neelsen, mostrando sòmente elementos a.a.r., porém alguns homogêneos, a maioria já granulosos: Etiqueta: «Cultura camundongo «Chaves» inoculado com material do Rhesus 4 (Chaves). Outro círculo com 8 elementos a.a.r., todos com condensação do protoplasma em barras.

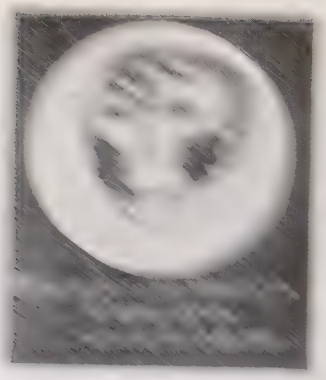
4a O mesmo Rhesus 4, desenho de perfil lado esquerdo, mostrando os nódulos da face dêsse lado, do sobrolho, e um pequeno, secundário. Passagem do Rhesus 2, 12.º dia de incubação. Em baixo uma fotografia confirmando o desenho acima.

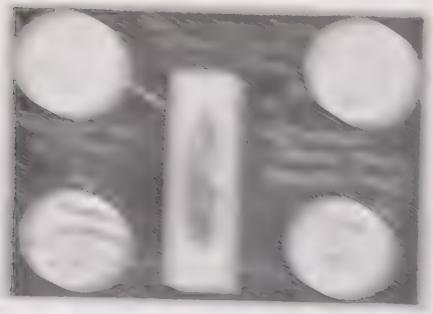
5º Estampa do Rhesus 4 (passagem do Rhesus 2), representando as biópsias de 25-5-50, no 1.º de Junho seguinte: feridas ulceradas, rubras, sangrando pelo arrancamento do curativo pelo símio. São 3 ulcerações nos sobrólhos e duas grandes nas faces.

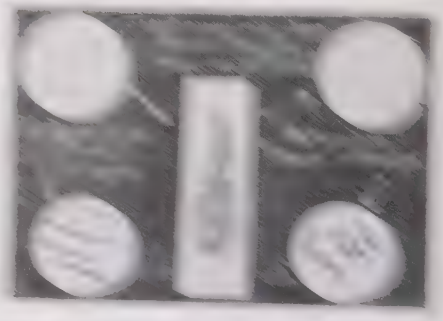
Estampa central com 5 figuras coloridas, sendo: à esquerda círculo representando esfregaço de pús do Rhesus 4 inoculado com a cultura «Chaves», 1.300x. Em baixo, um círculo com 4 longos bacilos do mesmo pús, com 3 a 6 granulações ou condensações em barra, corados pelo Ziehl-Neelsen 7.000x. No centro 1 tubo de Loewenstein com 2/3 da germinação da cultura amarela obtida da semeadura de emulsão-soda do tumor da face do Rhesus 4, passagem do Rhesus 2 (C. «Chaves»). À direita, em cima, um círculo representando esfregaço da referida retrocultura, com predominância dos bacilos granulosos. Em baixo, outro círculo com 5 elementos dêsse esfregaço corados pelo Ziehl-Neelsen, 4 bipolares, com condensações em barra e um com grânulo circular no centro, 7.000x.

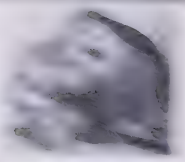
5a O mesmo Rhesus 4, em desenho 15 dias após a biópsia (9-5-50) representando pequenas ulcerações residuais nas faces e nódulos secundários junto à *asa nasi* direita e à direita da raiz do nariz.

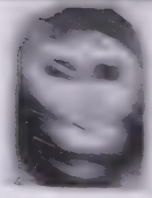
Etiqueta: «Rhesus 4 (passagem cultura «Chaves») com nódulos secundários. Em baixo uma fotografia confirmando essas lesões.











EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

ESTAMPA 10

6° *Rhesus n° 2* inoculado com cultura «Emilia» (7° dia). Desenho mostrando 2 grandes nódulos íntegros na face e sobrólho esquerdos, e outro alongado na face direita e um pequeno circular na fronte direita, ulcerando. Em baixo estampa com 5 figuras, sendo à esquerda uma circular representando esfregaço de pús-Rhesus 3 (não 2 como escreveu o desenhista), inoculado com cultura «Emilia» 1.300x. Duas células de pús parasitadas, uma globia frouxa com bacilos medianos, e espalhados muitos bacilos longos, granulósos. Em baixo outro círculo com 4 elementos, 1 com 1 nódulo central de diâmetro duplo ao do bacilo e uma barra apical, 2 com 3 nódulos e 1 com 2 nódulos e uma barra apical longa. No centro 1 tubo de Loewenstein, com cultura amarela, em minúsculas e inúmeras colônias circulares, proveniente do pús do Rhesus 3. À direita um círculo de esfregaço desta cultura corado pelo Ziehl-Neelsen, mostrando sòmente bacilos a.a.r., todos granulósos. Em baixo outro círculo com 5 elementos a.a.r., 1 com uma barra apical, outro com 2 barras bipolares, 1 com um grânulo central e 1 barra apical, e o 5° com 3 nódulos nitidamente circulares.

Um desenho da cabeça do Rhesus 3 no 7° dia da inoculação com cultura "Emilia", de perfil esquerdo, mostrando 4 tumores. Outro desenho no 16° dia da mesma inoculação, mostrando o símio de frente, com 4 grandes tumores, 2 nos sobrólhos e 2 nas faces, todos em início de ulceração. Em baixo 2 fotos confirmativas dêsses 2 desenhos: 6a e 6b.

7° Desenho do Rhesus 5, 2ª passagem da cultura «Chaves» (7° dia), mostrando, de frente, 2 enormes nódulos nas faces e 3 menores na fronte. Em baixo outro desenho do mesmo Rhesus no 7° dia, perfil esquerdo tendo debaixo uma foto confirmativa. À direita dêste desenho outro, de frente, do mesmo Rhesus 5 no 16° dia de incubação com a inoculação da retrocultura "C" do Rhesus 4. No centro uma estampa com 5 figuras, sendo uma circular à esquerda, esfregaço do pús do Rhesus 5 e outro círculo com 3 elementos a.a.r. 7.000x. No centro da estampa 1 tubo de Loewenstein da retrocultura do material do Rhesus 5: com inúmeras pequenas colônias amarelas, pequeninas, tendo à sua direita um desenho do esfregaço da mesma, 1.300x: bacilos a.a.r. granulósos e em baixo outro círculo representando 4 dêsses elementos, bacilos longos, granulósos, pleomórficos, com nódulos polares ou centrais, ou barras de condensações nos pólos, ou elemento cocótrice com nódulos circulares ou barras de protoplasma condensado.

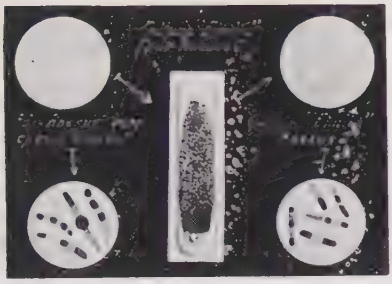
Desenhista *Ary Gonçalves*.

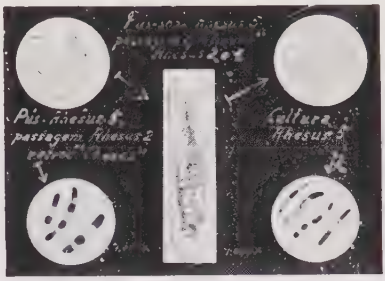
N.B. — Tôdas as figuras foram desenhadas do natural e os macacos fotografados em seguida. As culturas, desenhadas do natural, em tubos grossos de Loewenstein, estão um pouco esquematizadas, mas perfeitas, assim como estão perfeitos os desenhos das preparações microscópicas. — *Souza-Araujo*.

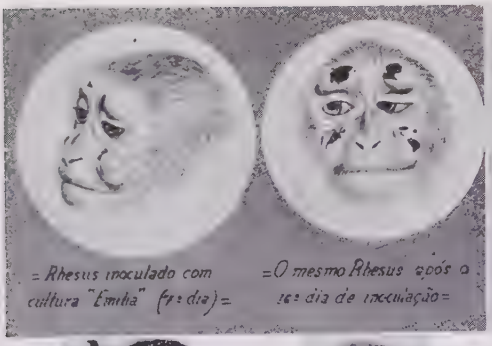
ESTAMPA 10

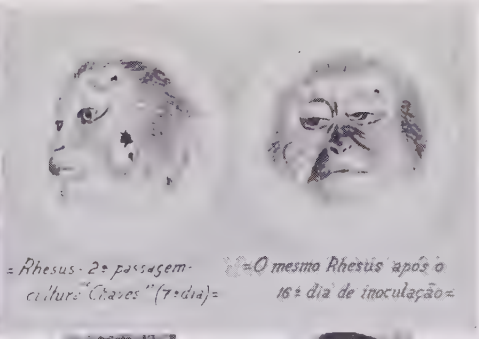
6º

7º









6a

6b

7a

7b

EXPLANATION OF THE FIGURES

PLATE No. 10

6. *Rhesus N.* 2, inoculated with the «Emilia» strain (7 days incubation). Drawing showing 2 large, compact tumors on the left cheek and eybrow, and another long one on the right cheek, and a smaller, circular one, on the right side of the forehead, this one ulcerating. Below, a plate with 5 figures, of which the circular one on the left represents the pus smear of Rhesus No 3 (and not No. 2, as according to the drawer), inoculated with the «Emilia» strain, 1.300x. Two parasite pus cells, one loose globia with median bacilli and many scattered large bacilli, granulated. Below, another circle, with 4 elements, 1 with 1 central nodule, the diameter of which is twice that of the bacillus and 1 apical bar, 2 with 3 nodules and 1 with 2 nodules and a long apical bar. In the center, one tube of Loewenstein medium, with a yellow culture within innumerable very small circular colonies, originated from the pus of Rhesus No 3. On the right, a circle with a smear from this culture, stained by the Z-N method, showing a.a.f. bacilli, all granulated. Below, another circle with 5 a.a.f. elements, 1 with apical bar, another with 2 bi-polar bars, 1 with a central granule and 1 apical bar, and the 5th with 3 clearly circular nodules. A drawing of the head of Rhesus No. 3, on the 7th day after inoculation with the «Emilia» strain, left profile side, showing 4 tumors. Another drawing, made on the 16th day after this same inoculation, showing the monkey front view, with 4 large tumors, 2 eyebrows and two on the cheeks, all of them starting ulceration. Below, photos confirming the above drawings: 6a and 6b.

7. Drawing of Rhesus No. 5, 2nd passage from the «Chaves» strain (7 days old), showing 2 enormous nodules on the cheeks and 3 smaller ones on the forehead. Below another drawing of this same Rhesus, on the 7th day, left profile view, with the respective confirmative photo. On the right, another drawing, front view of the same Rhesus No 5, on the 16th day of incubation with the inoculation of the "C" retroculture of Rhesus No. 4. In the center, a plate with 5 figures, one of them circular, on the left, a pus smear of Rhesus No. 5, and another circle containing 3 a.a.f. elements, 7.000x. In the center, one tube of Loewenstein medium, retroculture of the material from Rhesus No. 5: with innumerable very small yellow colonies, and at the right, a drawing of the respective smear, 1.300x: granulated a.a.f. bacilli, and below this another circle representing 4 of these elements, large granulated pleomorphic bacilli, with polar or central nodules, or condensation in bars at the poles, or coccotrix element with circular nodules or with protoplasma condensated in bars.

Ary Gonçalves, Del.

Note: all drawings were made *ad naturam* and the monkeys were photographed immediately afterwards. The culture, also drawn from the natural, in thick Loewenstein tubes, are a little schematized, but still perfect, as are also perfect the drawings of the microscopic preparations. — *Souza-Araujo*.

TRANSLATION

Experimental Leprosy in Monkeys

Patogenic action of acid-alcohol fast bacilli isolated from lepers («Chaves» and «Emilia» strains) for **Macaca mulatta** and **Cebus fatuellus** (*)

MATERIAL AND METHODS EMPLOYED

This is a resumé of our studies concerning experimental leprosy, in a period extending from November 1949 to December 1954, with seven *Macaca mulatta* and two *Cebus fatuellus* specimens. Since we had repeatedly noticed, in previous experiments, that hairy animals are refractory to leprous infections, we preferred the Rhesus monkey, due to its hairless face.

Inocula — The following a.a.f. bacilli cultures, isolated from lepers, were used as infection agents:

1. "Hecke" ("H") strain, a non-chromogenic culture obtained from the biopsy (July 13, 1949) of a lepromatous lesion of A. A. Hecke, male, age 26, Case L2-N1, after a 50 days' incubation period, at 37°C. (1)

2. «Chaves I» («CI») strain, a chromogenic culture obtained from the 7th biopsy (September 15, 1949) of a lepromatous lesions on J. L. Chaves, male, age 30, Case L2-N2, after a 30 days' incubation period, at 37°C.

3. "Chaves II" ("CII") strain, a chromogenic culture obtained from the 14th biopsy of the left knee residual lesion, on the above patient, after a 3.220cc intravenous *Promin* injection; morphologically and biologically identical to the "CI" strain.

4. "Maria D." ("M.D.") strain, a retroculture of the "CI" strain, obtained from the biopsy (January 23, 1950) of a cicatrised abcess resulting from a 3 + Mitsuda reaction, injected into the left forearm of Maria D., age 18, Case Lt, in consequence of an inoculation into the patient's right thigh, using 0.2 cc of the emulsion of her husband's (Chaves) culture. A chromogenic culture morphologically and biologically identical to the "CI" strain.

5. "Emilia" ("E") strain, a chromogenic culture obtained from the biopsy (Feb. 28, 1950) of a lepromatous lesion on Emilia J. P., age 53, case L2-N2, after a 20 days, period of incubation, at 37°C (2). There are highly acid-alcohol fast, Gram positive bacilli, which, when stained by the Fontes method present the classic forms of pathogenic mycobacterias; positive reaction to fluoroscopy and partially positive reaction to the cyto-chemical reaction of Dubos for virulence, according to the intensity of their

(*) Part of a lecture presented at the "Cours Supérieur International sur Maladies Tropicales et le Paludisme", organized by the "Conseil des Organisations des Sciences Médicales». University of Stanbul, Turkey, Aug. 25, 1953.

yellow pigmentation. These bacilli were all examined under the electronic and phase contrast microscopy; the results of this examination will be the subject of another paper.

Inoculation via and doses — Our monkeys have always been inoculated by sub-cutaneous means. In order to infect rat with the Stefansky bacillus, Marchoux used 0.4 cc of a fresh leproma emulsion. For monkeys, that are from 30 to 50 times heavier than rat, we have used from 1 to 2 cc. of a culture emulsion, therefore no more than 5 times that used for rat. As to the bacteria, the culture suspensions correspond to those of the leproma.

SUMMARY OF RECORDS

RHESUS Nº 1. Female, age 4 months. Inoculated on Nov. 11, 1949, using 0.5 cc of the "Hecke" culture emulsion, 2nd generation, dated Sept. 26, 1949, in equal dosis into forehead and chest. On Nov. 21 a nodule made its appearance on the left brow; as regards the chest, a very hairy region, nothing abnormal could be seen. On Nov. 25, it was inoculated into forehead and cheeks, using 0.5 cc. of an emulsion from the same «H» culture, 3rd retroculture, originated from pus of an inguinal tumour of a black mouse. By Nov. 29th, a nodule could be perceived on the right cheek, and by Dec. 15th, there appeared 2 small nodules on the forehead, one of them a residual of the first, the other of the second inoculation, besides one large nodule on each cheek, the histopathology of which, effected 60 days after the inoculation (Jan. 9, 1950), revealed granulomas similar to those found in the human leproma. (3)

RHESUS N.º 2. Male, age 4 months, weight 2.5 kg., inoculated on March 22, 1950 into forehead and malar regions, using 1.5 cc of the "Chaves I" culture, in 5% glycerin broth, 80 days old. This monkey was submitted to 7 inoculations, in a period extending over March 22, 1950 to August 14, 1951; this might appear exaggerated: Charles Nicolle and Blaizot (4), however, inoculated a *Bonnet chinois*, which is smaller than the Rhesus, 16 times in a period of 60 days, using human leprosy material. From April 10, 1950 to August 8, 1951, Rhesus N.º 2 suffered 9 biopsies, for bacteriology, histopathology and inoculation purposes. The material resulting from the first biopsy, effected on April 10th 1950, the 19th day after inoculation, revealed an abundance of a.a.f. bacilli in smears and sections, its histopathology, according to Professor Magarinos Torres (P.C. 16.398), was found to be similar to that of the human leproma. The 2nd inoculation was carried out on April 29, 1950, using a tumour suspension of Rhesus N.º 3 infected by the "Emilia" culture. 15 days later the two malar nodules looked like florid lepromas, and their bacilloscopy was found to be positive. 70 days later (June 20, 1950) the monkey had a normal appearance, and was inoculated with the "Emilia" retroculture of Rhesus N.º 3. Both local and general reactions were much more violent than those resulting from the tumour inoculation. On july 5th, I extirpated this monkey's four facial nodules, sending two to Dr. Arthur Porto Marques, from the Leprosy Service of the Distrito Federal, for his personal studies,

the remaining two being used for bacteriology and histopathology. The smears of these tumours, stained by the Ziehl-Neelsen, Gram and Fontes methods, were found to be positive. The suspensions of these tumours gave positive results for fluoroscopy and the Dubos reaction for virulence. On July 17th, the fluoroscopy of the monkey's faces was found to be positive for a.a.f. bacilli. On this date I extirpated the last residual forehead nodule, also positive for a.a.f. bacilli. On August 10th, the 50th day after inoculation, I found the animal to be very thin, with palpable inguinal ganglions, nasal mucus (++) positive for a.a.f. bacilli, similar to these of the inoculum. On that same day the animal was reinoculated (4th inoculation) using its own culture ("Emilia" strain) obtained from the biopsy effected on July 5th, this reaction being more intensive than the former ones, resulting in nodules which started ulcerating 10 days later, and which were healed after a 60 days' period (October 10th). On October 20th (the 70th day after the last inoculation), the monkey was once more inoculated with a retroculture of a white rat, from the same «Emilia» strain. Reactions, both local and general, were found to be stronger than the preceding ones. Inoculation of human bacillus culture into the rat seems to have greatly increased its virulence. The histopathologic examination of the 5th biopsy, effected on Nov. 8, 1950, according to Dr. Jorge P. Guimarães report (P.C. 16.792), revealed outlines of a tuberculoid granuloma, which constitutes a matter of considerable pathologic significance.

On the 30th day after the 5th inoculation (Nov. 20th), the (++) positive pus collected from the lesions was treated and sown into the adequate media. On the 60th day (Dec. 20th), there could still be seen large facial tumours; alopecy spots were found on head and body of the monkey. The bacilloscopy of the nodules remained positive until Feb. 1, 1951 and on the 19th and 26th of this same month it was still possible to effect material collection in these nodules, for bacilloscopy purposes. After a 6 months' reste, I proceded to the 6th inoculation of the monkey (April 25, 1951) using as an *inoculum* the 2nd generation of the Rhesus own retroculture, "E" strain. Once more the animal reacted violently. On the 3rd and 9th of May, pus and skin for bacteriology was collected from the lesions. The bacilloscopy resulted positive. After an eleven weeks' rest in the general bioterium, the 7th inoculation was carried out, on August 14, 1951, using only 1cc. of the «E» culture, obtained by means of inoculation into Rhesus N.º 3. Local and general reactions were still found to be rather strong; there were formed 3 nodules, at noseroot and malar regions. Bacilloscopy of feces and nasal mucus of this monkey, effected on Aug. 28th, was positive for a.a.f. bacilli, as before. The 3 nodules were then extirpated and their bacilloscopy was found to be strongly positive.

The material resulting from this 9th and last biopsy was submitted to histopathology. Dr. Rita Cardoso's report (P.C. 17.351) revealed a granuloma of epitelioid cells and rare giant cells. This retrogressive tendency of a structure similar to that of the human leproma (P.C. 16.398), for a granuloma of the tuberculoid type (PP. CC. 16.792 and 17.351), is very significative.

RHESUS N.° 3 — Inoculated on April 13, 1950, using 2cc. of a suspension of the "Emilia" culture, into forehead and malar regions. On the 12th day after inoculation, it presented a *facies lepromatosa* so characteristic that it was decided, 3 days later (April 28, 1950), to have it decapitated in order to preserve the piece at the Pathology Museum of the Instituto Oswaldo Cruz. After the 11th day of inoculation, nasal mucus and feces of this monkey were found to be positive for a.a.f. bacilli.

Histopathologic examination of facial tumours of the monkey (P.C. 16.480) revealed «an acute haemorrhagic-purulent process associated with a.a.f. bacilli» and, according to Dr. Jorge P. Guimarães, not similar to a leproma. However, upon examination of new sections from fragments of the Museum piece, which had been preserved in Kayserling fluid for 30 days, the same anatomo-pathologist says: "We found an extensive inflammatory process in the derma, the border of which contain many vacuolated macrophagi with a morphology resembling that of the leprous cell». June 7, 1950.

New fragments of this piece, which had been preserved in Kayserling for 51 months (P.C. 19.156) showed well-preserved histologic structure and a sub-cutaneous abcess containing a.a.f.bacilli. New sections from the P.C. 16.480 block, from May 30th 1950, stained on Dec. 30th 1954 by the HE and ZN methods and examined by Dr. Eithel Duarte, revealed a tuberculoid granuloma structure, with many a.a.f. bacilli. The same block that on May 30, 1950 contained vacuolated macrophagi resembling leprous cells, by Dec. 30, 1954 comprised a tuberculoid granuloma with many a.a.f. bacilli.

Two experimented anatomo-pathologists found in the lesions of Rhesus N° 3 the same that is frequently found in human leprosy, namely alternation of lepromatous and tuberculoid granulomas. This is what is nowadays called bi-polar leprosy.

RHESUS N.° 4 — Inoculated into the face, on April 13, 1950, using a bacilli poor emulsion, from the nodules of Rhesus N.° 2, infected with the "CI" culture on March 22, 1950. This "passage" apparently remained negative until May 5, 1950, when the monkey was inoculated with the "CI" retroculture from the same April, 13th biopsy, 2cc into eyebrows and malar regions. It seems that the monkey became hiper-sensitized as a result of the first inoculation, because 24 hours later it showed strong tumefaction at the four inoculation points and, on the 12th day (May 23), 4 large nodules resembling florid lepromas, on forehead and cheeks. The pus that was collected on this occasion, from the right cheek nodule, revealed an abundance of bacilli and globi, confirmed by a strongly positive fluoroscopy. On that same day the examination of feces and nasal mucus of the monkey revealed the existence of a.a.f. bacilli.

On May 25 the 2 larger nodules were extirpated for bacteriology and histopathology, the smears of which, stained by the ZN method, revealed innumerable bacilli and globi. Their histopathologic examination (P.C. 16.476, dated June 7th 1950) disclosed a peculiar inflammatory process,

constituted predominantly by macrophagi, without either giant cells or caseation necrosis, positive, however, to a.a.f. bacilli, «a histopathologic configuration which does not strictly correspond to that of the granuloma of human leprosy" (Dr. J. P. Guimarães).

By June 1st the sowings of pus collected on May 23rd were germinating in 6 tubes with Loewenstein medium. Two frontal nodules were extirpated (2nd biopsy) and their pus was found slightly positive. On the 15th day after the 2nd biopsy two small secondary nodules appeared, the size of grains, on forehead and right nostril. The wounds resulting from the biopsies took a long time cicatrising, since the animal insisted on taering off and eating crusts. The nasal mucus bacilloscopy, effected on August 8th 1950, three months after the inoculation, was strongly positive, as can be seen in Fig. 5, Plate 1. On that date the monkey was inoculated using 1.5cc of a suspension of its own retroculture, originated from the biopsy effected on May 25, 1950. Next day the animal demonstrated great suffering and refused food; on the 2nd day an intense and diffuse erithema appeared all over its face, persisting for 15 days. By Oct. 26th a secondary nodule could be seen on its left eyebrow, resembling a leproma; since the wounds resulting from biopsies were healed, the monkey was again inoculated using 2cc of a «CI» culture emulsion, retroculture of Rhesus N.° 5, passage of Rhesus N.° 4, into malar regions only. Forty-eight hours later general conditions were much worse and a diffuse erithema appeared all over the monkey's face. The results of the histopathologic examination of the biopsy effected on Nov. 1st, 1950 (P.C. 16.783), of a secondary nodule and of a nodule resulting from the new infection, were very significative. The report, prepared By Dr. J. P. Guimarães under Dr. Magarinos Torres's supervision (Dec. 8, 1950), reads as follows in a final Note : *"The histopathologic configuration maintains points of contact with the leprotic reaction, lepromatous type, as described for human material."* The fifth and sixth reinoculations presented nothing of importance comparable to the above described.

RHESUS N°. 5. Inoculated on May 25th, into eyebrows and malar regions, using 2cc of the tumour suspension of Rhesus N.° 4, infected with the "CI" culture, 3 + positive bacilloscopy; beginnings of cutaneous nodulations were observed only 20 days later (June 14th). On June 6th the right-eyebrow tumour was extirpated, the smears of which revealed strongly fluorescent a.a.f. bacilli; the sowings produced a good retroculture. On that same day, it was reinoculated with a retroculture of Rhesus N.° 4, originated from Rhesus N.° 2, again into eyebrows and malar regions; reaction was moderate and pus sowings from one of its nodules, effected on June 28th, started germinating on July 8th. It was reinoculated on August 11th, with this same retroculture, with more violent reaction than the former ones, whereupon its nasal mucus was found to be positive to bacilloscopy and fluoroscopy.

On Oct. 26th and Dec. 20th this monkey was submitted to two further reinoculations, and their results were similar to the preceding ones; the 6th inoculation, however, effected on April 25th 1951, using a «Maria D» cul-

ture (retroculture of the "CI" strain), in a dosis of 1.5cc, had the most violent reactions. By May 22nd, the monkey presented several secondary nodules; on this occasion it was exhibited to the doctors of the Bacteriology Section and biopsied. In accordance with a histologic examination carried out by Dr. J. P. Guimarães (P.C. 17.071, on June 1st, 1951), a granuloma with macrophagi predominance was found, as well as some giant cells and eosinophile leucocytes. After a 3 months' rest in the General Bioterium, this Rhesus was again inoculated, on Aug. 14th, using the same "M. D." retroculture; strong local reactions appeared on the following day. On Aug. 28th, two of its forehead and right cheek nodules were extirpated and used for bacteriology. From the histopathologic examination of one of these nodules, effected by Dr. Rita Cardoso (P.C. 17.352, Sept. 11th, 1951) there resulted a granuloma with epitelioid cells and giant cells of the Langhans type, which is of the greatest importance for the type of lesion studied.

The retroculture obtained from this Rhesus, examined in December 1954, and sections and smears of the experimental phase present the same primitive characteristics.

RHESUS N. 6 — Having noticed that the "Maria D." culture was rather virulent for the Rhesus, I inoculated Rhesus N.° 6, adult female, not exposed to any prior experiments, with 1.5cc emulsion of this culture, for the special purpose of producing lepromas for the preparation of Lepromina. A 0.5cc dosis of this culture was injected into the forehead and equal dosis into each malar region, on Nov. 5th 1951; on the following day there could already be seen large and acute nodules at the points of inoculation. Ten days later (Nov. 14th) the three nodules (Fig. 28, Plate 6) were extirpated and their smears resulted strongly positive for isolated a.a.f. bacilli, as well as for intra and extracellular globi; histopathology was performed (P.C. 17.537).

With the remaining two nodules I prepared 20cc of Lepromina, according to the Fumio Hayashi method, and used on human beings in comparison with Hansen and Stefansky Lepromins, a subject about which I shall make a report in another paper.

On the 62nd day after this inoculation I proceded to the extirpation of the residual nodule on the monkey's forehead; which smear was negative for a.a.f. bacilli, as were the sections (P.C. 17.608, Jan. 23rd, 1952).

More or less 48 months after this biopsy, I, re-examined the sections corresponding to P.C. 17.537: those stained by the HE method revealed granulomas in which there was found a predominance of macrophagi and the ones stained by the ZN method (the coloration of which was surprisingly well-preserved) showed granulomas heavy with a.a.f. bacilli, either isolated, in bundles or in globi, both extra- and intracellular, in mocrophagi and in polymorphocellular leucocytes. It is not possible to tell the difference between these sections and those of human florid lepromata.

RHESUS N.° 7: This monkey, that had already been used by Dr. Henrique Penna in connection with yellow fever studies, was inoculated on

April 23rd, using a «Jesus» culture (retroculture of an experimental lesion caused by injection of the «CII» culture). A dosis of 0.5cc of this suspension was injected into the monkey's forehead, and the same amounts into cheeks and under right nippe (where the skin is very hairy). Four hours later the animal, despite its size (it weighed 5kg) and strength, seemed very tired, with strong swelling on the face; forty-eight hours later there could be seen three large, lentil-sized, reddish nodules. During the second week (May 7th) a hard infiltration was felt on its chest, with a diameter of about 2cm, and on its face three grain-sized nodules; one half of the forehead and right cheek nodules was extirpated for bacteriology, histology and inoculations, which smears, stained by the ZN method revealed the existence of giant and granulous a.a.f. bacilli and from one of the nodules and excellent retroculture was obtained. From the histopathologic examination there resulted (P.C. 17.815) a granuloma similar to the ones previously described, with a predominance of plasmatic, giant and large mononuclear vacuolated cells, many of which containing a.a.f. bacilli. With this Rhesus the series of experiments was stopped.

Cebus fatuellus Ns. 1 *and* 2. Dr. Henrique Penna had the kindness of sending me a couple of *Cebus* for my experiments and, despite the fact that these are monkeys with very dark and hairy skin, of difficult observation, I inoculated them, on Oct. 26th, 1950, using 1cc. of the «CI» *inoculum* for each. Two months later the male *Cebus* presented a small nodule on the forehead, whereas nothing could be noticed in the female. On Jan. 5th, 1951 I again inoculated them and the feces bacilloscopy of both, effected on Jan. 8th, 1951, revealed many a.a.f.bacilli. On Jan. 25th I extirpated the male's frontal nodule and the corresponding smears revealed an abundance of bacilli, either isolated or in globi, intra and extracellular, as did also the histologic cuts (P.C. 16.905). These cuts, stained by the ZN method, were found to be as rich in bacilli as those of Rhesus Nº 6.

The female *Cebus* did not react and was killed 110 days after the first inoculation: the examinations of skin, lymph-nodes and viscera all resulted negative.

CONCLUSIONS

1. The inoculation of a.a.f. bacilli cultures from lepers produced in the Rhesus' hairless skin nodular lesions which were found similar to lepromas, without generalization to either hairy skin or entrails, notwithstanding timely elimination of bacilli through feces and nasal mucus.

2. The histopathology of these nodules revealed, in some instances, a lepromatous structure followed by a tuberculoid one in reinoculations, which was a proof that there exists a certain degree of immunity.

3. Bacilli were always re-isolated from primary lesions, and, as a rule, these retrocultures were found to be more virulent for monkeys than the suspensions of the respective tumours.

BIBLIOGRAPHY

1. Souza-Araujo, H. C. de

1950. Caso de lepra maligna (L2-N1) que regrediu ràpidamente sob a ação duma terapêutica mista (Sulfona-Fisioterapia). Memorias do Inst. Osw. Cruz, T. 48, Ano 1950, 101-112.

2. Souza-Araujo, H. C. de

1950. Bacteriology of Human Leprosy: Two New Chromogenic Cultures of Acid-Fast Bacilli Isolated from Two Patients, Pathogenic for Laboratory Animals and for Man. Fulfilment of Koch's Postulates. Abstracts of Papers, Fifth International Congress for Microbiology, Rio de Janeiro, August, 1950, pp. 63/4.

3. Souza-Araujo, H. C. de

1951. Demonstration of two new cultures of *Mycobacterium leprae hominis* (Strains «Chaves» and «Emilia») pathogenic for *Macacus rhesus* and Man. Transactions, Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Vol. 45, Nº 2, October, 1951, pp. 151/3.

4. Ch. Nicolle et Blaizot

1913. Essai de Reproduction de la Lèpre chez le Chimpanzé et les Singes inférieures. Arch. de l'Institut Pasteur de Tunis, Avril 1911, p. 275. Résumé: lepra, 1913, Vol. 13, pp. 68/70.

RECORDS OF THE INOCULATIONS

Rhesus nº 2 — Male, age four months, weight 2,500 gms.

22-3-50. *First inoculation* — A total culture of 1.5cc. in 5% glycerin broth, of 29-12-49 from a "Chaves" strain, (80 days old) 0.5cc of which were inoculated into the forehead and 0.5cc into each malar region, subcutaneously.

Inoculum smear +++. Acid-alcohol fast bacilli only.

23-3-50. 24 hours later: a violent local reaction could be noticed, especially on forehead. The animal was very restless.

24-3-50. Restlessness persists and animal suffers intensely. Acute nodulation appeared at each inoculation place.

25-3-50. The animal is calmer, and the nodule on the right cheek is the more noticeable.

29-3-50. The animal begins to take more nourishment and the inflammation went back. 1-4-50. Forehead nodule bigger.

5-4-50. 14th day after inoculation: the animal, presenting wide-spread facial tumours, is shown to Drs. Magarinos Torres and Arêa Leão. It was photographed on this date. Cyanotic facial skin. Left-side cheek nodule is flattened, size of about 2x1 cm.; 1 cm. below, a secondary cyanotic nodule was noticed, looking like a florid human leproma. On April 8th, the nodules were considerably larger.

10-4-50. 19th day after inoculation: a new photo was taken. *First Biopsy* — Right malar tumour. Smear +++. A portion of the tumour was treated and inoculated into several tubes with Loewenstein medium; the rest was sent to Dr. Magarinos Torres, for histopathologic examination. P.C. 16.398, 12-4-50. Result of anatomo-pathologic examination of the skin of a Rhesus inoculated with "Chaves" strain culture 19 days before:

"Extensive inflammatory reaction of the derma, predominance of large mononuclear cells (macrophagi) and occasionally vacuolated cytoplasm. Heterophile leucocytes (purulent inflammation) also found in several areas. Where exsudate is formed almost entirely by macrophagi, there could be noticed acid alcohol fast bacilli in small numbers. The microscopic similarity noticed between this granuloma and the human leproma consists in their well-defined limits, the zone of the typical granuloma being followed by another one,

where the derma maintains its normal structure. The above description applies to both pieces that were sent us by Dr. Souza-Araujo.

Manguinhos, April 12th 1950. *Dr. C. B. Magarinos Torres,* Chief of the Pathology Division."

13-4-50. 22nd day after the inoculation: The second Biopsy was performed by Dr. Murillo Fontes, using Novocain as anaesthetic. Two nodules were extirpated, one on forehead and one on the left cheek. A suspension of these two nodules was inoculated into Rhesus N.° 4, and part of it was treared with a KOH solution and inoculated into 12 tubes with Loewenstein medium. The biopsy blood smears, stained by Ziehl-Neelsen revealed some a.a.f.bacilli. Fragments of the skin around these tumours were sent to Dr. Magarinos Torres, for histopathologic examination, results of which were as follows:

P.C. 16.406, 15-4-50. Fragments of the skin of Rhesus N.° 2, inoculated with a "Chaves" culture on March 22nd. "The fragment is surrounded by stratified pavement epithelium. Deeply seated in the derma there is a large well-defined nodule, composed of mononuclear cells, some with vacuolated cytoplasm, spindle-shaped cells and lymphocytes. Occasional polymorphonuclear cells may be noticed. Research revealed a few acid-alcohol fast rods.

Rio, December 20th 1950. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

14-4-50. The animal suffers under the effects of the biopsy and takes very little nourishment.

15-4-50. The animal begins to feed better and the wounds are healing.

29-4-50. Wounds cicatrized. Tho small residual nodules remain on the left malar region.

29-4-50. *Second Inoculation* — 5 weeks after the first a second inoculation was made into the right malar region and into the forehead, with a bacilli-poor emulsion, from pus extracted from the facial lesion of Rhesus N.° 3, that had been inoculated with the "Emilia" culture.

1-5-50. No local reaction could be noticed. Some of the tubes with Loewesntein medium, sown on April 10th and 15th with material from this Rhesus showed germination of yellow colonies, similar to the inoculated "Chaves" strain. On the fifth day after inoculation there began to appear excrescences on forehead and right malar region.

10-5-50. From the 12 tubes of Loewenstein medium, sown on April 15th, 7 show germination similar to that of the inoculated culture.

12-5-50. Examination: Two distinct grain-sized lepromata could be seen on the forehead and felt, infiltration on the right side of the face. When the monkey was taken out of its cage, its left malar scar was hurt; a smear thereof revealed some a.a.f. bacilli.

13-5-50. The swelling on the right malar region begins to look like a nodule; hairs round the frontal nodule fell off.

5-6-50. There was noticed a definite regression of the above lesions.

20-6-50. *Third inoculation* — Inoculation of 2 c.c. of a suspension of the "Emilia" retroculture from June 12th obtained from Rhesus N.° 3, in equal amounts (0.5 cc.) injected into each malar region and over each brow.

21-6-50. The animal looks very sick, with violent local reaction. On June 23rd the monkey still seemed sick, inappetent and sad. The inoculation produced large cyanotic nodules. 26-6-50. New photos were taken.

29-6-50. The four congested nodules — two on forehead and one on each cheek are still apparent, about the size of a hazel-nut. The animal's general condition is improved. The pathologist Dr. Jorge P. Guimarães examined all three Rhesus inoculated with a.a.f. bacilli cultures from leprous patients.

30-6-50. Dr. Arthur Marques Porto, from the Federal District Leprosy Service, came to see the three monkeys affecting leprotic facies.

5-7-50. *Third Biopsy* — Dr. Vianna Dias anaesthetized the monkey with Ciba DIAL, 0.5 cc. p/kg. The animal slept for 2 hours. Four ulcerated nodules were biopsied by myself, and two were sent to Dr. Arthur Marques for his own studies. Fifteen tubes with Loewenstein medium were inoculated with pus *in natura* and tumour suspension. The pus smears of each lesion revealed many a.a.f.bacilli similar to those of the "Chaves" strain, some of them with ramifications, positive by fluoroscopy, as verified by Dr. Laerte

Andrade. The results of the examination of a nodule sent to the Pathology Division are included in P.C. 16.559. 6-7-50. Anatomo-pathologic examination of a skin fragment of a Rhesus monkey inoculated with the "Emilia" culture:

"The fragment is surrounded by stratified pavement epithelium with partial destruction and infiltration by polymorphonuclear leucocytes and fibrine (ulceration). In the derma, a diffuse inflammatory cell infiltrate was found, composed especially by lymphocytes and mononuclear cells, some of which with vacuolated cytoplasm. Spindle-shaped cells and polymorphocellular leucocytes were also noticed. Attention was called to the presence of hemorrhage. No acid-alcohol fast bacilli.

Rio, December 20th 1950 — *Jorge P. Guimarães.*"

17-7-50. *Fourth Biopsy* — One of the monkey's residual forehead nodules was removed and sent to the Pathologic Anatomy Section, for examination. Some a.a.f. bacilli were found in the feces of the animal, as expelled during the biopsy.

P.C. 16.600. July 17th 1950. Examination of a forehead skin fragment (nodule) of Rhesus N.º 2, inoculated with the "Emilia" culture: "The fragment is covered by apparently normal epidermis. Several nodules of a peculir inflammatory process are noticed in the hypoderma. Fundamentally large, mononuclear cells, the cytoplasm of which seems to be continued by fibres, establishing reciprocous connections among them: in some parts these elements are shaded due to the presence of intensely hematoxylin stained granules (necrosis area with caryorrhexis); a strong ectasia of capillaries and hemorrhage are noticed at the level of these foci. No a.a.f. bacilli were found.

Manguinhos, August 8th, 1950. *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

P.C. 16.601. July 17th 1950. Fragment of the ulcerated lesion of the axilla of Rhesus n.º 2, inoculated with the «Emilia» strain. «The fragment comprises striate muscle and an abundance of fibrous conjunctive tissue, in which a chronic inflammatory process is noticed. The proliferation of fibrocytes and collagen fibres predominates over the cellular infiltration. Absence of acid-alcohol fast bacilli.

Manguinhos, August 10th, 1950. Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

10-8-50. Examination of the animal: thin; unpalpable lymph nodes; complete alopecia of tail. Bacilloscopy of the nasal mucus, positive (++).

10-8-50. *Fourth Inoculation* — Suspension of the animal's own culture, obtained from pus treated with soda, at 7-7. 1.5 cc. were inoculated into three different points: nose root and malar regions.

11-8-50. Intense local reaction, with remarkable swelling in the inoculated areas. The animal's general condition is good and it takes nourishment regularly.

12-8-50. Animal still in good general condition, in spite of acute nodulation in the inoculated areas. On August 20th the nodules were larger and started ulceration.

1-9-50. Regress of all three nodules. The animal was bled, and 5cc. of blood were obtained for Dr. Nicanor Botafogo's studies.

10-10-50. Animal in good general conditions and skin is cicatrized.

20-10-50. Monkey's appearance is normal: 70th day after last inoculation.

Fifth Inoculation — 2cc. of an "Emilia" retroculture suspension, obtained from a white rat killed on July 10th, 1950, were injected into four different points, in the forehead and malar regions.

21-10-50. The animal's face is all swollen up and cyanotic and the monkey seems to be suffering very much. On October 24th the local reaction was still worse and the four injected points already presented nodulation.

26-10-50. Improvement in general condition of the animal, but nodules are larger.

30-10-50. The animal presents two large and acute nodules over the brows, another on the left cheek and extensive infiltration in both malar regions.

3-11-50. Increase of cutaneous lesions. On November 7th a new photo was made. The pus extracted from the lesions was strongly positive for intra and extra-cellular a.a.f.bacilli, similar to those of the "Chaves I" strain. Apparently the passage of the "Emilia" strain culture in a rat increased its virulence.

8-11-50. *Fifth Biopsy* — Three nodules were excised, without use of anaesthetic, two from the forehead and one the right malar region. The pus smear revealed many intra and extra-cellular a.a.f.bacilli, and much less in a skin smear. One nodule was treated for sowings, which, as usual, produced retroculture. Fragments of three nodules were

sent to the Pathology Anatomy Section and the results of their examination are as follows:

P.C. 16 792. November 9th, 1951. Skin fragment of a Rhesus reinoculated with 'Emilia' culture on October 20th, 1951.

The sections show that the epidermis does not reveal noticeable changes. [illegible] mostly by spindle-shaped cells, epithelioid cells and lymphocytes; in a follicular disposition may be noticed. Nodules of larger proportions indicate the central necrotic zone, with polymorphonuclear infiltration. Research for acid-alcohol fast bacilli was negative.

Rio, December 11th, 1951. Dr. Jorge P. Cumarães."

Unfortunately the better part of the material of the 5th. Biopsy has not been used and the absence of bacilli which were found in great numbers in the smears, is rather strange. The above report states that an examination was effected "of a skin fragment" and not of a nodule that simulates a leprome.

[illegible]

[illegible]

Z-1-5. The large basal tumour persist and there appeared alopecia on the head and all over the body. A tube with Loewenstein medium was inoculated with pus still positive for a few bacilli. On the 26th. the animal's condition was the same.

5-1-5. Biopsying a secondary nodule of the monkey's left cheek, which was several days old and simulated leprome, I found it to be going back. A puncture of the right ear lobe tumour furnished pus; of a caseous pus the smear of which, stained by Z-N, indicated scarcity of bacilli. On January 26th. a new pus extraction was made, which was treated by suck and inoculated into four tubes with Loewenstein medium.

12-1-5. The animal was once more photographed. A new puncture of the right [illegible] inoculated into four tubes with Loewenstein medium and three with glycerin broth.

26-1-5. A new biopsy of the right malar region was performed for bacteriology. The animal was transferred to the General Biotenium while I undertake a trip to Argentine.

4-2-5. The monkey was once more transferred to the laboratory, in good general [illegible]

25-2-5. Sixth Inoculation. - The animal was re-inoculated into two different points of the forehead and into the malar region, with 1 Soc. of an 'Emilia' culture suspension second generation from 4-1-5. On the next day, intense reaction could be seen.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

P.C. 17.072. May 23rd, 1951. Fragment from the left cheek lesion of Rhesus N.° 2, inoculated on 25-4-51, with a suspension of the «Emilia» culture from 4-1-51. Results of the examination :

"The sections examination shows, at one point, interruption of the epidermis (ulceration). In the derma and hypoderma, there was found an inflammatory cell infiltrate, with a predominance of large mononuclear cells (macrophagi) and sometimes of vacuolated cytoplasm and polymorphonuclear leucocytes. The blood vessels of the region are dilated and congested, and hemorrhage foci are frequent. Circumscribed necrose areas can also be observed. No acid-alcohol fast bacilli were found. Rio, June 1st, 1951. S/ Dr. Jorge P. Guimarães."

(May 22nd) The animal was sent back to the General Bioterium, for rest and fattening.

14-8-51. The monkey returned to the laboratory in excellent general conditions.

Seventh Inoculation — With 1.0 cc of a suspension of an "Emilia" retroculture from Rhesus N.° 3, was inoculated into the forehead and malar regions, 1/3 cc into each point. The inoculum was a 22-5-50 Loewenstein culture.

15-8-51. The animal looks depressed and refuses to take nourishment ; swellings and erithema all over its face. On the next day, erithema had decreased and nodulation began to form at the inoculation places. On 17-8 these nodulations were about the size of common olives.

21-8-51. The nodule at the root of the nose is the larger and the one on the right cheek suppurated. Two nodules were formed on the left cheek, the smaller, apparently a secondary one, situated in the angle of the eye.

24-8-51. The forehead nodule is the larger and more integrated; those on the cheeks are regressing,and the small secondary nodule augmented a little.

28-8-51. *Nineth Biopsy* — Three nodules were extirpated, onde from the forehead, and two from the malar regions. Roasted coffee powder, which is an excellent hemostatic, was used. The pus obtained was inoculated *in natura* into two tubes with Loewenstein medium and its bacilloscopy resulted slightly positive. The animal's feces, collected on that occasion, also contained but few bacilli. A fragment sent to the Pathologic Division for study resulted in the following P.C. 17.351, 29-8-51:

Skin fragment of a Rhesus inoculated with an "Emilia" culture (retroculture from Rhesus N.° 3) inoculated on August 14th :

"Derma infiltration of groups of large mononuclear cells, with abundant cytoplasm of variable form, occasionally forming a reticule. Besides these cells, which constitute the majority and which have a morphology of epithelioid cells, there are also noticed lymphocytes, some polymorphonuclear leucocytes and a few giant cells. Epidermis without alterations. Absence of acid-alcohol fast bacilli, in the cuts that were examined.

Rio, September 11th 1951. *Dra. Rita Alves de Almeida Cardoso."*

11-9-51. The monkey's facial lesions are almost cicatrized. There still remain one nodule on the left cheek and another, a secondary one, in the outer angle of the right eye.

15-10-51. Examination of feces: Negative for a.a.f.bacilli. The animal presents only one residual nodule on the left cheek and was returned to the Bioterium for resting and fattening and later utilization for other purposes.

December, 1954 — About 50 months after the experiments, a reexamination of the smears of the nasal mucus of rhesus 2, the skin of the cheek of rhesus 4, passage of the infection from rhesus 2 and the *inoculum* (culture "E"), stained by Z-N respectively on August 10, 1949, May 25 and July 7, 1950, were inalterated, showing acid-fast bacilli isolated, in bundles, intra or extracelulares. Also the sections of the lesions, stained by H-E were inalterated.

RHESUS N.° 3. Male, four months old. 13-4-50. *Ist Inoculation* : With 2 c.c. of suspension of the "Emilia" culture, in Loewenstein medium, from 1-4-50 : 12 days old. One half of the suspension was injected into the eyebrows and the other half into the malar regions, as always sub-cutaneously.

17-4-50. Nodular inflammation at the points of inoculation.

21-4-50. 8th day after the inoculation : more intensive inflammation, redcoloured and simulating a lepromatous leprosy L3.

24-4-50. 11th day after inoculation: as the monkey was roped in order to be photographed, thre facial tumours burst open. The pus was collected with a pipette and inoculated, *in natura*, into 3 tubes with Loewenstein medium. Another portion of that pus, after treatment, was sown into 5 tubes of Loewenstein. The smears obtained from this material, stained by the Ziehl-Neelsen method, resembled the smears of a leproma emulsion. The feces revealed some a.a.f.bacilli. The nasal mucus, feces and pus smears, examined on the 25th by Dr. Laerte de Andrade, resulted positive to fluoroscopy.

25-4-50. 12th day after inoculation: The monkey was decapitated by Dr. Murillo Fontes, for conservation of the head in the pathology museum. Fragments of the tumor and viscera and lymph nodes were sent to Dr. Magarinos Torres for the respective histopathologic examination. The pus smears revealed an abundance of a.a.f.bacilli, while those of skin and lymph nodes were poor.

P.C. from 28-4-50. Rhesus N° 3. Nature and origin of the tissue: P.C. 16.429. Facial skin fragment, comprising a large tumour; inguinal and axilar lymph nodes, and testicles. P.C. 16.430: liver, spleen, kidney and lung. Observation: the Rhesus was inoculated, with an emulsion obtained from a culture of the leprous Emilia, on 13-4-50. Results of the anatomo-pathologic examination: "Skin fragment (comprising the lesion referred to in the above information). An acute purulent-haemorrhagic inflammatory process can be noticed, associated to destruction of the epidermis (ulceration). Presence of a.a.f.bacilli, in the inflammatory exsudate. The examination of the viscera reveals hiperhaemia of liver and kidneys, while the spleen retains its normal structure.

Resumé: The animal presents an acute haemorrhagic-purulent process in the skin lesion, associated to the presense of a.a.f. bacilli. There is no leproma-like granuloma. Absence of inflammatory lesion in the examined viscera. Manguinhos, May 25th, 1950. s/ *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

29-4-50. The pus taken from the tumours was submitted to a soda treatment, as well as the suspension of the skin triturate, and were sown into 12 tubes with Loewenstein medium, one with potato and another with glycerin broth. The smears were found ++, as well as the fluoroscopy of the pus, as verified by Dr. Laerte. When the smears were re-examined 15 days later (on the 11th of May) they were still fluorescent. On May 11th some of the tubes with Loewenstein medium showed germination of yellow colonies. This retro-culture was later on inoculated into Rhesus N.° 2. (14-8-51).

28-5-50. *Necropsy*: Extirpation of o skin fragment from the frontal lesion of the head which had been preserved during 30 days in Kayserling solution and sent to the Pathologic Anatomy Section.

P.C. 16.480, from 30-5-50. Facial skin fragment of Rhesus N.° 3. Results of the anatomo-pathologic examination: "The material comprises an epidermis that does not show any noteworthy lesions. In the deep portion of the derma there is an inflammatory process, which seems to have been caught by the biopsy in only one its margins. In this zone attention was called by the existence of great mononuclear cells, with vacuolated cytoplasm. The reticule interposed between the vacuoles is stained blue by hematoxylin. In this extensive inflammatory area in the deep portion of the epidermis there was noticed peri-vascular infiltration (lymphocytes and macrophagi) in the sub-papillar plexus. The presence a.a.f. bacilli was observed.

Resumé: An extensive inflammatory process could be noticed in the derma, at the borders of which there were numerous vacuolated macrophages, with a morphology resembling that of the leprosy cell. — Manguinhos, June 7th, 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

On the 15th of July, 1954, after about 51 months that the material (head) of Rhesus N.° 3 having been preserved in Kayserling solution, two fragments were cut by me from the borders of two facial lesions and their smears revealed an abundance of a.a.f.bacilli. This material was sent to the Pathologic Anatomy Section, for study.

P.C. 19.156, from 15-7-54. Facial and forehead skin of a Rhesus monkey inoculated with leprosy by Dr. Souza-Araujo. Observation: the material was preserved, for a long time, in a Kayserling solution.

Results: "The skin sections show a well-preserved histhologic structure, and the tissues are excellently stained by the hematoxylin eosin. In the sub-cutaneous cellular tissue there is a large badly-defined abcess, with leucocytes in a state of desintegration and

necrosed tissues. Presence of a.a.f.bacilli in the sections by the Ziehl method. — Rio, October lst, 1954. *Dr. Eitel Duarte.*"

RHESUS N.° 4, Male, one year old. Weight 4 kgs.

13-4-50. *Ist Inoculation*: with 3 c.c. of an emulsion from two nodules of Rhesus N° 2, which had been inoculated on March 22nd, with the «Chaves I» strain, and biopsied to day. This emulsion presented but few bacilli. *Ist passage*.

17-5-50. Apparently, there is no reaction.

20-4-50. To this date, nothing has been noticed. The animal was transferred from the bioterium to the laboratory. From the lst until the 12th of May nothing could be perceived or felt by palpation.

12-5-50. *2nd Inoculation*: 2 cc. of an emulsion from the "Chaves I" retroculture, obtained from the leproma of Rhesus N.° 2, which had been biopsied on 13-4, were subcutaneously injected — 1 cc into the forehead, in two different places, and 1 cc into the cheeks.

13-5-50. Tumefaction at the four points of inoculation. The animal is yawning repeatedly, which had not been noticied before; it seems sad and has no appetite.

23-5-50. 12th day after inoculation: two nodules on the eyebrows, one being ulcerated, and another, much larger, on each cheek. Pus had been collected from the right malar region and two smears were prepared; Dr. Laerte observed positive fluoroscopy, both in isolated bacilli and in globi. The other smear, stained by the Ziehl-Neelsen revealed fieds with 3 cells with globi. Examination of feces by Z-N +. Nasal mucus ++.

Some pus was sown *in natura* into 3 tubes with Loewenstein medium and some was treated with soda and smeared into 5 tubes of the same medium. See photo from May 23rd N.° 19 plate 4.

25-5-50. *Ist Biopsy*. By means of general anaesthesia, after an injection into the left safena vein with 3,5 cc of a solution of 4,0 morphine, 80,0 chloral hydrate and 400,0g of distilled water. The animal slept profoundly and Dr. Murillo Fontes extirpated the two large facial tumours of the monkey, for bacteriology and inoculations. (See photo n. 20). Smear of this pus +++. Smear of one biopsied tumour +++. The blod from the wound the pus, and one fragment from the tumour were treated with 10% soda, after which the blood was sown into 3 tubes with Loewenstein, medium, 6 tubes were inoculated with the pus and 6 with the tumour triturate. The two biopsied tumours were sent to Dr. Torres, for histopathologic examination.

P.C. N.° 16.475, from 25-5-50: Skin fragment of Rhesus N.° 4, inoculated with an emulsion from the "Chaves" culture, on May 12th.

Results from the anatomo-pathologic examination: "The fragments comprise the epidermis, which does not show any noteworthy modifications. In the deeper portion of the derma, there is an extensive inflammatory process, with regular distribution of blood vessels (small arteries and capillaries), without indication of a recent formation. The cells of the inflammatory exsudate are predominantly mononuclears. In some portions there is an association of lymphocytes and polymorphonuclear cells and also, in other regions, there is a predominance of polymorphonuclear cells (fibrinouspurulent inflammation), occasionally associated to infiltration of hematias (purulent haemorrhagic inflammation). Absence of giant cells and of caseation necrosis. Positive research for acid-alcohol fast bacilli.

Resumé: We have observed an inflammatory process with peculiar characteristics, due to its constitution by cells in their majority macrophage and to its tendency towards suppuration and haemorrhage in circumscribed areas. The histhologic configuration does not strictly correspond to that of the leprosy granulome as observed in man. — Manguinhos, June 7th 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

After the animal came out of the anaesthesy, it tore off and ate the dressings of the wounds.

1-6-50. *2nd Biopsy*: The forehead nodule was sent Dr. Jorge. The pus smear of the lesion was found +. The wounds resulting from the lst Biopsy were dressed. The animal frequently removes and eats the crusts of the lesions. Germination was found in the 3 tubes with Loewenstein medium inoculated with pus *in natura* on May 23rd, as well as in the other 3 sown with pus treated with soda (in these germination is poor). The animal stil shows large facial ulcerations.

10-6-50. 15th day after the biopsy: two secondary nodules appeared on the cheek, forehead and right nostril, lentil-sized and leproma-like. The ulcers are slow to cicatrize. The animal eats all he can get off the ulcers.

14-6-50. A nodulation continues to grow on the right eyebrow.

20-6-50. The ulcers are almost cicatrized.

22-6-50. The secondary nodules remain stationary.

10-8-50. All lesions went back. Smooth cicatrization; skin with normal appearance, lymph-nodes could not be felt. Examination of nasal mucus: +++. See fig. 5, plate 1.

10-8-50. *3rd Inoculation*: with 1,5 cc of the emulsion from the monkey's own retroculture, from the biopsy effected on May 25th, which were injected into the cheeks and root of the nose.

11-8-50. The animal seems to be suffering: it refuses all food, including some guava sweets, of which it uses to be very fond.

12-8-50. Diffuse erythema all over the cheek. General conditions seem to be improved. This inflammation persisted for 2 weeks, with ocular suppuration during several days; ulceration on the right cheek and left eyebrow.

1-9-50. The left eyebrow nodule has ulcerated. Pus examination +. A secondary nodule has shown up on the right eyebrow. Results from the bacilloscopy of the right cheek +, and from nasal mucus +. *1st Bleeding*: 5 cc for Dr. Botafogo.

30-9-50. The monkey is completely cured from lesions and biopsies.

26-10-50. *4th Inoculation*: Injection of 2 cc of the emulsion of the "CI" culture obtained from Rhesus N.° 5 (passage from Ns. 2 and 4), from August 11th 1950, into the cheeks only. It presents a secondary hazelnutsized nodule, of lepromatous aspect, 4 cm above the left eye.

27-10-50. General state rather weakened. Intense erythema all over the face.

1-11-50. *3rd Biopsy*: Forehead (secondary) and left cheek nodules. Facial pus + with «CI» aspect. Blood from the biopsy ++.

P.C. N.° 16.783, from 1-11-50. Skin fragment of Rhesus N.° 4. Results from the anatomo-pathologic examination: the examined material comprises two fragments:

1st fragment: There are no noteworthy alterations in the epidermis. Profoundly seated into the derma, there is a large nodule consisting of spindle-shaped cells (epithelioid cells?) and lymphocytes, associated to polymorphonuclear leucocytes. The central part of the nodule shows necrosis and haemorrhage.

2nd fragment: No noteworthy alterations of the epidermis could be perceived. In the whole extension of the derma one can notice nodular infiltrations with more or less clear limits, the histology of which resembles that of the nodule described above. They are formed by mononuclear cells, with vacuolated cytoplasm, spindle-shaped cell, lymphocytes, and polymorphonuclear leucocytes. Congestion and edema of the derma could furthermore be observed. Positive results in the research for a.a.f.bacilli.

Note — The histologic configuration presents points of contact with the leprotic reaction, lepromatous type, as described in human material. (Revision of the preceding result (10-11-50) under the orientation of Dr. Torres) — Rio, December 8th 1950. — *Dr. Jorge P. Guimarães.*"

20-12-50. Examination: perfect cicatrization of the biopsies; some nodulations persist on forehead. *5th Inoculation*: 2 cc of the emulsion of the "Jesus" retroculture (CI) (from 24-10 *in natura*), 0,5 cc of which into the root of the nose and 1,5 cc. into the malar regions. The monkey is very thin and presents alopecia on the back and dorsum.

21-12-50. Very dejected; it does not eat, not even sweet cookies, about which it is crazy. The whole face is reddened, without nodulation: intense and diffuse erythema.

22-12-50. The general state remains bad. Face still reddened; beginnings of nodulation.

23-12-50. Still in a state of great suffering and does not care about food.

26-12-50. 3 large nodules can be seen on forehead and cheeks, the center of one of which is suppurating. General state improved.

5-1-51. Three large nodules persist, 1 at the root of the nose and 2 on the cheeks, these last already ulcerated. General health conditions good. 9-1-51. The same conditions persist.

16-1-51. Pus examination +, another smear ++ and bundles of a.a.f. bacilli with the same morphology as that of the "CII" culture. Two tubes with Loewenstein medium were inoculated with the pus *in natura*.

The monkey was transferred to the general bioterium, because it was very thin.

4-4-51. The monkey was returned to the laboratory, very hairy and healthy.

25-4-51. It was re-examined and found to be radically cured: 125 days after the 5th inoculation.

6th Inoculation: with 1.5 cc of the emulsion of its own retroculture (CI), which had been sown on 25-10-50, in equal portions into eyebrows and cheeks.

26-4-51. Moderate reaction. On the 28th nodulation began to form.

30-4-51. Erysipelas all over the face; purulent inflammation in the right eye.

7-5-51. The four inoculated points have ulcerated. The erysipellous aspect continues.

9-5-51. Suppurating face; pus +, sown onto Loewenstein. A bleeding was made for Dr. Julio Muniz studies. *4th Biopsy*: right eyebrow nodule, for Dr. Jorge.

P.C. N.° 17.051, from 10-5-51: Right eyebrow nodule of Rhesus N.° 4, inoculated on 25-4-51 with an emulsion of its own culture "CI". Results of the anatomo-pathologic examination: "The sections show necrose areas, deeply seated in the hypoderma, at the center of which it is possible to notice blood vessels. These areas are very near to each other, and are surrounded by polymorphonuclear leucocytes. More to the periphery, one sees large mononuclear cells (macrophages), lymphocytes and plasmatic cells, mingled with the polymorphonuclear ones. Research for a.a.f. bacilli resulted negative. — Rio, May 29th 1951. — Dr. *Jorge P. Guimarães*."

23-5-51. *5th Biopsy*: left eyebrow and secondary nostril nodules, for bacteriology. Nodule and nasal mucus smears: negatives.

P.C. 17.081/P.C. 17.082, from 23-5-51: fragment of the left eyebrow nodule and fragment of nostril of Rhesus N.° 4, inoculated with its own culture ("Chaves I" retroculture) on April 25th.

Results of the anatomo-pathologic examination: 17.081 — The sections reveal, in the derma and hypoderma, an inflammatory cellular infiltration, with a predominance of large mononuclear cells (mocrophages), frequently of vacuolated cytoplasm, and lymphocytes; it is also possible to see an abundance of polymorphonuclear leucocytes. Also haemorrhages and plasmatic cells. No a.a.f. bacilli were found.

17.082. In the derma and hypoderma there was noticed an inflammatory cellular infiltration, comprising large mononuclear cells (macrophages), lymphocytes and polymorphonuclear leucocytes, as well as plasmatic cells. In some points of the fragment it is possible to observe haemorrahages. Occacionally, eosinophile leucocytes are found. No a.a.f. bacilli were seen. — Rio, June 6th, 1951. — *Dr. Jorge P. Guimarães*».

This Rhesus was transferred to the General Bioterium, where it was matched to its laboratory companion, «Sofia», and died one year later.

RHESUS N.° 5 — Young female, very fierce.

25-5-50. *Ist Inoculatin*: with 2 cc of the emulsioan of the tumour of Rhesus N.° 4, which had been produced by the inoculation of the «Chaves I» strain, biopsied on this date, 0.5 cc into each cheek and on each eyebrow.

Bacilloscopy of the suspension: +++.

26-5-50. The first examination of the monkey was effected, with Dr. Arthur Marques: we noticed some slight excrescences.

10-6-50. Apparently nothing important can be noticed. The animal is becoming tamer.

14-6-50. 20th day after the inoculation: nodules are forming on the left cheek and right eyebrow.

20-6-50. The right eyebrow lesion was biopsied, and its smear, stained by Z-N revealed fragmented a.a.f. bacilli. Fluoroscopy: +. Sowings: +.

2nd Inoculation: 2 cc of the emulsion of the retroculture of the pus of Rhesus N.° 4, inoculated with the original retroculture from May 23rd of Rhesus N.° 2, into eyebrows and cheeks. The fluoroscopy of this emulsion was positive.

21-6-50. No remarkable reactions.

23-6-50. Nodules begin to appear on the left eyebrow and malar regions.

26-6-50. The monkey was photographed. 28-6-50. The nodules became slightly less pronounced. A pus smear of same revealed the presence of a.a.f. bacilli and globi. After a soda treatment, it was sown into 10 tubes of Loewenstein.

30-6-50. A new examination was effected, again with Dr. Arthur Marques.

5-7-50. The animal's face was photographed again.

8-7-50. In several of the tubes with Loewenstein medium there appeared yellow colonies.

11-8-50. A careful examination of the animal did not reveal any hipertrophied lymph nodes or cutaneous lesions; the facial nodules have almost disappeared.

3rd Inoculation: 1.5 cc of a suspension of its own culture from June 28th (passages from Rhesus N.° 4), as always in the skin of the face. The *inoculum* examination was found to be strongly positive for granulous a.a.f. bacilli.

12-8-50. The animal presents acute nodules at the points of inoculations. Some nasal mucus was collected, stained by Ziehl-Neelsen method, and found positive. Fluoroscopy: +.

1-9-50. The animal presents general cyanose of the face, with decreasing nodules, one of them large and compact, on the right eyebrow. The animal was bled, 5 cc being obtained for Dr. Botafogo Gonçalves studies.

30- 9-50. The animal is apparently cured.

26-10-50. *4th Inoculation*: 2 cc of the suspension in saline solution of its own retroculture ("CI"), original from the 2nd inoculation. Culture from 11-8-50: equal quantities into cheeks and eyebrows.

27-10-50. Acute nodules at the four inoculated points.

30-10-50. The animal was photographed. The right cheek pus smear, stained by the Ziehl-Neelsen method, was ++. This pus was sown, *in natura,* into 3 tubes of Loewenstein medium.

3-11-50. The lesions progressed very much, but the monkey is lively.

7-11-50. Again the lesions were photographed. Pus was collected from the lesions and its bacilloscopy showed bacilli identical to those of the "CI" culture. This pus was sown and by the 30th of November germination started.

8-11-50. Two nodules from the eyebrows were biopsied, presenting the aspect of human lepromas; they were sent to Dr. Jorge Guimarães, for examination:

P.C. N.° 16.973, from 8-11-50: skin fragment of Rhesus N.° 5, reinoculated on 26-10-50. Results of the anatomo-pathologic examination: "The sections show an epidermis without alteration. In the derma, there is an inflammatory granulome, consisting of a large nodule composed by mononuclear cells and vacuolated cytoplasm, spindle-shaped cells and lymphocytes. Intense infiltration by polymorphonuclear leucocytes, many of them with caryorrhexis, and the central zone of the nodule, which corresponds to the border of the section, presents necrose and haemorrhage. The research for a.a.f. bacilli resulted negative. Rio, December 11th, 1950. — Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

12-12-50. The culture in the tube inoculated on Nov. 7th presents punctiform yellow germination, all over the surface of the Loewenstein medium.

20-12-50. Small nodulations remain on the brow.

5th. Inoculation: 0,8 cc of the suspension of the "L" culture of patient N.° 16, from Mirueira, Recife (from 13-10-50). This culture was obtained from a lesion which had been produced in a lepromin reaction sear (where from the designation "L"), in the patient's left arm, and into whose right tight I had inoculated the "Emilia" culture, alive.

21-12-50. Intense local reaction; one large nodule appeared on the face. General health conditions are satisfactory.

23-12-50. Local reaction has become more intense, the nodules are larger and general health conditions remain good.

26-12-50. A large pustulous nodule is noticed on each cheek. Bacilloscopy of feces: ++, as also the fluoroscopy.

5-1-51. Two large nodules on malar regions, the one on the right-side being already ulcerated. The forehead lesions are cicatrizing.

14-2-51. Very small nodules remain on the forehead, and a larger one on the right cheek.

26-2-51. The right cheek nodule was biopsied, and the monkey was removed to the general bioterium.

4-4-51. The monkey was returned to the laboratory, in good health conditions, and with cicatrized lesions.

25-4-51. General examination of the monkey: the facial skin is atrophied and cyanotic and alopecia was observed all round the face.

6th Inoculation: 1.5 cc of the suspension of the "Chaves I" culture (retroculture from Maria Domingas), from 4-1-51, into cheeks and eyebrows.

26-4-51. Not very intense local reaction. By the 28th the nodulation was more pronounced.

3-5-51. The monkey was photographed, front and profile with the best success. Pus was collected from one nodule, and ist bacilloscopy was positive. Such pus *in natura* was sown into 3 tubes with Loewenstein medium and 1 with glycerin broth.

4-5-51. The right cheek nodule was biopsied for bacteriology.

9-5-51. Extirpation of left cheek and eyebrow and secondary nodules was effected, whose smears were +++, on account of which they were sent to Dr. M. Torres. On that same day, the animal was bled and 5 cc of blood were obtained for Dr. Muniz.

P.C. N.º 17.052, from 10-5-51. Fragments of the left cheek nodule of Rhesus N.º 5, Chiquita, inoculated on 25-4 with a "Maria Domingas" culture (retroculture from the Chaves I strain). Results of the anatomo-pathologic examination: "The fragments show, in some points, interruption of continuity of the epidermis (ulceration). In the derma and hypoderma, there is inflammatory cellular infiltration, formed by large mononuclear cells (macrophages) and polymorphonuclear leucocytes. In some parts these last are predominant, forming micro-abcesses. The vessels of this region are moderately dilated and congested. There can still be noticed some small haemorrhage foci. Presence of a few a.a.f. bacilli. Rio, May 30th 1951. — Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

P.C. N.º 17.053, from 10-5-51. Secondary nodule from Chiquita Rhesus, inoculated on April 25th with a «Maria Domingas» culture. Results of the anatomo-pathologic examination: "At a point there is interruption of the continuity of the epidermis (ulceration). In the derma and hypoderma there is inflammatory cellular infiltration, consisting of large mononuclear cells (macrophages) and polymorphonuclear leucocytes of which the first are in the majority. There may still be noticed lymphocytes and plasmatic cells. Acid alcohol fast bacilli and granulations were noticed. Rio, May 30th, 1951. Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

22-5-51. Several secondary nodules can be perceived on the right cheek. I showed the monkey to Drs. Genésio Pacheco, Gobert Costa and Laerte de Andrade. Afterwards, these nodules were extirpated and sent to Dr. Jorge Guimarães, for histopathology.

P.C. N.º 17.070 and P.C. N.º 17.071, from 23-5-51. Material from Rhesus N.º 5 (Chiquita), inoculated whith a "Maria Domingas" strain on 25-4-51.

P.C. N.º 17.070. Skin fragment from the point of inoculation. Results of the examination: "The sections show that the epidermis is ulcerated at a point. In the derma, there is an inflammatory infiltration, consisting of large mononuclear cells (macrophages), frequently with vacuolated cytoplasm, lymphocytes and polymorphonuclears. These do occasionally from micro-abcesses. Deeply situated in the hypoderma, there was found a haemorrhage area. No a.a.f. bacilli were found.

P.C. N.º 17.071. Skin fragment (secondary nodule). "The sections present an epidermis without alterations. In the derma and hypoderma there are cellular infiltrations more or less well-circumscribed, consisting, predominantly, of large mononuclear cells (macrophages), and frequently with vacuolated cytoplasm, while it is still possible to notice lymphocytes and polymorphonuclear leucocytes. In the derma the infiltrations are placed, generally, next to pillous foliculi and sebaceous glands. Eosinophile leucocytes and giant cells are seen occasionally. No a.a.f. bacilli were found. — Rio, June Ist, 1951. — Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

14-8-51. After a rest of around 3 months, in the General Bioterium, the monkey was brought back to the laboratory, presenting only residual lesions on the forehead and malar regions.

7th. Inoculation: 1.5 cc. of the suspension of the same "Maria Domingas" retroculture, from 4-1-51 (originated from a lactose broth from 1-8-50), which were injected into the forehead and malar regions, in equal quantities. 15-8-51. Intense local reaction, with nodulation at the three points of inoculation.

16-8-51. The nodules are the size of corn-grains.
17-8-51. The nodules have become more condensed.
21-8-51. The nodules are the size of a medium olive, and are suppurating.
24-8-51. The three nodules continue suppurating.
28-8-51. The forehead and right cheek nodules were extirpated. The pus obtained on this occasion, which was found positive for a.a.f. bacilli. was sown, *in natura*, into 2 tubes of Loewenstein medium. The skin was sent to the Pathologic Anatomy Section for examination.

P.C. N.º 17.352, from 29-8-51. Skin fragment of Rhesus N.º 5 (Chiquita), inoculated on August 14th with the "Maria Domingas" strain. Results of the anatomopathologic examination:

"Presence, in the derma and hypoderma, of discontinued inflammatory cellular infiltration, and also of a great number of polymorphonuclear leucocytes, which are more abundant in the deeper portions of the derma and in the hypoderma; next to the leucocytes, there are large mononuclear cells, with varying forms and abundant cytoplasm (spindle-shaped cells) and gigantic cells of the Langhans type. Epidermis without any alterations. Absence of a.a.f. bacilli in the cuts that were examined. — Rio, September 11th, 1951. — *Dra. Rita Alves de Almeida Cardoso.*"

1-9-51. Cicatrization of the wounds resulting from the biopsies was very quick, because we used rost coffee powder as haemostatic. The monkey presents two small secondary nodules in the outer angle of the right eye.
11-9-51. These nodules persist. 19-9-51. The aspects is better. The bacilloscopy of the feces of the animal resulted negative, and the Rhesus was returned to the General Bioterium to be used for other purposes.

RHESUS N.º 6 (Adult female).
5-11-51. The monkey was inoculated with 1.5 cc of an emulsion of the "Maria Domingas" strain retroculture grown on Loewenstein medium of 2-6-51, 0.5 cc of which were injected subcutaneously into the forehead and equal portions on each cheek and right groin, having in view the formation of nudules to make Lepromin.
6-11-51. The animal presents acute nodules at the three points of facial inoculation. Its general condition seems to be good.
13-11-51. The three facial nodules are larger and hardened and the one on the forehead shows a central pustule.
14-11-51. 10th day after inoculation. Photos were taken of each side of the face and afterwards the three nodules, which were also photographed, were extirpated. The smears of these nodules, sained by Ziehl-Neelsen, were strongly positive: isolated a.a.f. bacilli, in extra-and intra-cellular globi and masses. Giantic, granulated and vacuolated (g.g.v.) bacilli. From the pustulous forehead nodule some pus was sown, *in natura*, into 2 tubes with Loewenstein medium, which germinated in due course. One tumour was sent to Dr. *Rita Cardoso* for histopathology and with the rest there were produced 20 cc of *Lepromin* for human use.

P.C. 17.537, 14-11-51. Rhesus N.º 6. Fragment of facial tumour. The animal was inoculated with "Maria Domingas" strain on 5.11. Results of the anatomo-pathologic examination: "Extensively purulent and acute inflammatory process, associated to voluminous mononuclear cells containing an extraordinary quantity of a.a.f. bacilli. The same germs are also found in the cytoplasm of polymorphonuclear leucocytes. Rio, January 23rd, 1954. Dr. *Rita A. A. Cardoso.*"

15-11-51. A pus collection was effected from the biopsied wounds, the smears of which, stained by Ziehl-Neelsen and "Fontes", were found positive. After a treatment with 10% soda, the sediment of this pus was sown into 4 tubes with Loewenstein medium, 1 with glycerin broth and 1 with potato, in all of which more or less extensive germination took place, similar to the original culture, both from this pus as from the tumour emulsion treated with soda on 17-11-51.
24-12-51. The biopsied wounds are healing and the monkey presents one secondary nodulation, of about 1,5 cm. on the right brow.
4-1-52. 62nd after inoculation. The facial scars are almost completely healer. I extirpated the forehead residual nodule, the smear of which, stained by Z-N, was found negative. This material was sent to the Pathologic Anatomy Section.

P.C. 17.608, 4-1-52. Rhesus N.º 6. Skin biopsy. The animal has been inoculated with "Maria Domingas" strain, 60 days ago. Results of the anatomo-pathologic examination: "In the hematoxylin-eosin stained sections, in a circumscribed point, there is effraction of the epidermis, with an accumulation of polymorphonuclear leucocytes. Next to this region (point of inoculation?), there is necrosis of the derma, associated to intense infiltration by polymorphonuclear leucocytes. Surrounding this zone, there were observed proliferation of fibrocytes and blood vessels. In isolate foci are seen large mononuclear cells, with abundance of cytoplasma, very frequently vacuolated, besides lymphocytes and polymorphonuclear leucocytes. Absence of a.a.f. bacilli in the sections stained by the Ziehl-Neelsen method. Rio, January 23rd, 1952. Dr. *Rita A. A. Cardoso.*"

10-1-52. The monkey was transferred on this date to the General Bioterium for fattening and utilization for other purposes.

RHESUS N.º 7. Female, weighing 5 kg, n.º 5.030, sent us by Dr. Henrique Penna.

23-4-52. The monkey was inoculated with 2 cc of a suspension of the "Jesus" strain (a retro-culture of the "Chaves II" strain), grown in Loewesntein medium, of 1-2-52; 0.5 cc were injected into the forehead, and equal portions into the malar regions and right-side nipple, all of them subcutaneously. The skin covering the chest was found to be very hairy. Four hours after the inoculation, the animal looked very downcast, with intense swelling at the points of inoculation. 48 hours later, the 3 facial inoculation points presented acute reddened nodules, about the size of a corn grain.

3-5-52. Definite nodulation on the three facial spots, with tumours the size of wich varies between that of a grain of maize and a bean; erythematous and infiltrated face. The animal was shown today to Prof. Dr. Mario Malfatti, from Buenos Aires.

7-5-52. After examination and palpation of the lesions the animal was photographed. The forehead and malar nodules are more or less the size of hazel-nuts. The erythema has become less intense and the nodules are of hard consistency. As to the chest, the right nipple lesion consists of a hard pasting, with a diameter of about 2cm.

7-5-52. One half of the forehead and right malar nodules respectively was extirpated by me for histopathologic and bacteriologic studies. The smears of this material, stained by the Ziehl-Neelsen method, revealed gigantic and granulated a.a.f.bacilli. Suspensions of the two tumours were inoculated into murines. The soda-treated emulsion was inoculated into 5 tubes with Loewenstein medium and in one glycerin broth.

P.C. 17.815, 7-5-52. Rhesus N.º 7. Fragment of a right-side cheek tumour. The animal had been inoculated with the "Jesus" strain, a sub-strain of "Chaves II", on 23-4-52. Results of the anatomo-pathologic examination: "Intense infiltration of derma and hypoderma by lymphocytes, plasmatic and sigantic cells, and by a majority of large mononuclear cells with vacuolated cytoplasm, many of which containing long, vacuolated, and granulated acid-alcohol fast bacilli. The epidermis shows no important alterations. Rio, May 28th, 1952 — Dr. *Rita A. A. Cardoso.*"

10-5-52. The left-side cheek tumour is larger and is formed by two reddened hazel-nut-sized nodules. The wounds which resulted from the two biopsies are covered with crusts.

15-5-52. The two large left-side facial nodules and the one on the chest, all of which had not been biopsied, are supurating, which pus was collected and sown *in natura*, in Loewenstein medium presenting definite germination on June 5th in 3 tubes, with aspect similar to that of the original "Chaves II" strain.

17-2-54. The culture obtained from the above biopsies is very good and has been transplanted.

CEBUS FATUELLUS N.º 1 — Male, bald, N.º 29.905 from the Rockefeller Laboratory. It was inoculated on October 26, 1950 with 1cc of a suspension in saline solution of the "Chaves I" strain, retroculture from Rhesus N.º 4, passage from Rhesus N.º 2, an original from 25-5-50. It was inoculated, in equal parts, into the forehead and malar regions. This monkey has dark and hairy skin, as a result of which, observation is rather difficult.

20-12-50. There begins to appear a capillary growth on the head. One nodule may be observed in the forehead and complete cicatrization at the facial inoculation points.

5-1-51. The animal was reinoculated, in the same points as before, with the same culture referred to above.

8-1-51. Examination of feces: positive for a.a.f.bacilli. On the right side of the forehead there can be observed a nodule about the size of a small olive.

25-1-51. Biopsy of the frontal nodule, presenting a macroscopic lepromatic aspect, surrounded by alopecia. One half of the tumour and a fragment of the chest skin (alopecic zone) were sent to the Pathologic Anatomy Laboratory for study. The smears of the nodule stained by Z-N are rich in a.a.f.bacilli and in intra- and extra-cellular globi. Uncountable number of cells with globi. In the smears the bacilli present the g.g.v. type of the "Chaves I" culture.

P.C. 16.905, 27-1-51. Male cebus. Frontal tumour and skin fragment of chest alopecic zona. The animal was inoculated on 26-10-50, and re-inoculated on 5-1-51 with the "Chaves I" Rhesus culture.

Results of the anatomo-pathologic examination: "The sections show interruption of continuity of the epidermis (ulceration) at some points. The derma and hypoderma present intense inflammatory cellular infiltration, consisting predominantly of large mononuclear cells (macrophages) and polymorphonuclear leucocytes, these last, very frequently, in a peri-vascular distribution. The vessels of this region are dilated and congested and small hamorrhage foci may be seen. Abundance of a.a.f. bacilli, especially intra-cellular. Rio, May 30th, 1951. — Dr. *Jorge P. Guimarães.*"

The tumour trituration, sown *in natura* on 25, on 29 january, was contaminated and discarded.

13-2-51. The cebus was killed and its viscera were examined. Nothing abnormal was found.

CEBUS FATUELLUS N.º 2 — Female, N.º 29.907 from the Rockefeller Laboratory. As the other one, it was sent us by Dr. Henrique Penna.

26-10-50. The monkey was inoculated with 1 cc of a suspension of the "Chaves I" strain, passage from Rhesus N. 2 and Rhesus N. 4, from 25-5-50. into the malar regions; black and hairy skin.

20-12-50. To this no signs of sickness were observed.

5-1-51. The animal was re-inoculated with the same culture, on the forehead and malar regions, as always sub-cutaneously.

8-1-51. Feces examination: positive for a.a.f.bacilli.

14-4-51. The aminal was killed, by means of chloroform injection into the lungs.

Necropsy: There were cut fragments from forehead skin, face, axillar, crural, and inguinal and sub-maxillar lymph nodes; fragments of lungs, liver, spleen, pancreas, left kidney and left testicle, all of which were negative for a.a.f.bacilli, at the 110th day after inoculation.